บทนำ: การดื้อต่อยาเคมีบำบัดของมะเร็งทางเดินน้ำดีในตับเป็นปัญหาสำคัญของการรักษาอย่างมาก ดังนั้นบทบาทของ pathway ที่คาดว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับการควบคุมการดื้อต่อยา oxaliplatin คือ PI3K/Akt, MEK1/2 และ p38MAPK จึงถูกทำการศึกษาในเซลล์มะเร็งทางเดินน้ำดีในตับ

วัสดุและวิธีการทดลอง: cytotoxicity ของ oxaliplatin อย่างเดียวหรือร่วมกับสารยับยั้งจำเพาะต่อ p38MAPK คือ SB203580 ต่อ MEK1/2 คือ U0126 และต่อ PI3K/Akt คือ LY294002 หรือ wortmannin ถูกทำการศึกษาในเซลล์มะเร็งทางเดินน้ำดีในตับ KKUM213 และ RMCCA1 ด้วยวิธี flow cytometry, apoptosis assay ระดับของ phosphorylated Akt, MEK1/2 และ p38MAPK ถูกตรวจวัดโดยวิธี Western blotting

ผลการทดลอง: cytotoxicity ของ oxaliplatin ใน RMCCA1 เกิดขึ้นเฉพาะเมื่อใช้ oxaliplatin ที่ความเข้มข้นสูงคือ มากกว่า 40 μM จากวิธี Western blotting พบว่า phosphorylation ของ Akt ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดขึ้นเฉพาะใน KKUM213 ที่ได้รับ oxaliplatin ขณะที่ phosphorylation ของ MEK1/2 เกิดขึ้นอยู่เป็นปกติอยู่แล้วในเซลล์ทั้งสองชนิดและไม่ได้ถูกเหนี่ยวนำให้เพิ่มมากขึ้นเมื่อเซลล์ได้รับ oxaliplatin ส่วน phosphorylation ของ p38MAPK พบในเซลล์ทั้งสองชนิดหลังจากได้รับ oxaliplatin สารยับยั้งจำเพาะต่อ Akt สามารถเพิ่มความไวต่อยา oxaliplatin ใน KKUM213 และสารยับยั้งจำเพาะต่อ MEK1/2 เพิ่มความไวต่อยา oxaliplatin ในเซลล์ทั้งสองชนิด ที่น่าสนใจคือเมื่อยับยั้ง p38MAPK ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำให้เกิดการตายแบบ apoptosis นั้นมีผลเพิ่ม cytotoxicity ของ oxaliplatin อย่างมีนัยสำคัญ

สรุปผลการทดลอง: จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงว่าเซลล์มะเร็งทางเดินน้ำดีทั้งสองชนิดดื้อต่อยา oxaliplatin โดยที่ RMCCA1 ต้องใช้ความเข้มข้นของ oxaliplatin ที่สูงคือมากกว่า 40 μM เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบ apoptosis ขณะที่ KKUM213 มีความดื้อต่อยา oxaliplatin มากกว่า RMCCA1 phosphorylation ของ MEK1/2 และ p38MAPK ซึ่งเป็นกลไกหลักในการป้องกันเซลล์มะเร็งเหล่านี้จากการตายแบบ apoptosis เนื่องจากได้รับ oxaliplatin นอกจากนี้ phosphorylation ของ Akt ถูกพบว่าเป็นปัจจัยหลักซึ่งเป็นสาเหตุของการที่ KKUM213 มีความดื้อต่อยา oxaliplatin มากกว่า RMCCA1 ดังนั้นการที่มุ่งเป้าไปที่ Akt, MEK1/2 และ p38MAPK pathway น่าจะเป็นแนวทางที่มีประโยชน์ในการพัฒนาการรักษามะเร็งทางเดินน้ำดีให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

Background: Chemotherapy is the major treatment problems in the treatment of cholangiocarcinoma. The roles of PI3K/Akt, MEK1/2 and p38 MAPK pathways in modulating oxaliplatin-chemoresistance were examined in cholangiocarcinoma cells.

Materials and Methods: The cytotoxicity of oxaliplatin in combination with or without specific inhibitors for p38 MAPK (SB 203580), MEK1/2 (U0126) and AKT (LY294002 or worthmannin) was investigated in KKU213 and RMCCA1 cholangiocarcinoma cell lines using flow cytometry apoptosis assay. Western blotting was performed to evaluate the level of phosphorylated Akt, MEK1/2 and p38 MAPK.

Results: The cytotoxicity of oxaliplatin was detected only in RMCCA1 at high concentration of oxaliplatin (> 40 μM). For western blotting assay, Akt phosphorylation was induced only in KKU213 treated with oxaliplatin while MEK1/2 was constitutive phosphorylation in both cell lines but treatment with oxaliplatin did not increase the phosphorylation of MEK1/2. P38 phosphorylation was observed in both cell lines after treated with oxaliplatin. Akt inhibitor can increase the sensitivity of oxaliplatin in KKU213 and MEK1/2 inhibitor can increase the sensitivity of oxaliplatin in both cell lines. Surprisingly, inhibition of P38 MAPK, which was thought as apoptosis induction pathway, significantly increases the cytotoxicity of oxaliplatin.

Conclusions: The results demonstrated that both cholangiocarcinoma cell lines are resistant to oxaliplatin. RMCCA1 required high doses of oxaliplatin (>40 □M) to induce apoptosis while KKU213 is more resistant to oxaliplatin than RMCCA1. Phosphorylation of MEK1/2 and P38 MAPK are keys mechanisms for protection of these cell lines from apoptosis induced by oxaliplatin. In addition, Phosphorylation of Akt is demonstrated to be a factor that causes KKU213 more resistant than RMCCA1. Targeting the AKT, MEK1/2 and P38 MAPK pathway may be a useful approach to improve the therapeutic responsiveness of cholangiocarcinoma cells.