รหัสโครงการ : **RSA5580030**

ชื่อโครงการ : กลไกระดับโมเลกุลของ CD147 ต่อการดื้อยาโดยการควบคุมการแสดงออกของยีน MDR1 และ Survivin ในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวเพาะเลี้ยงชนิด K562 ที่ดื้อยา

ชื่อนักวิจัย : ผศ. ดร. สาวิตรี เจียมพานิชยกุล แขนงวิชาจุลทรรศนศาสตร์คลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ ประเทศไทย

E-mail Address : sawitree.chiampa@cmu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 3 ปี

บทคัดย่อ

มะเร็งเม็ดเลือดขาวเป็นโรคมะเร็งที่เกิดจากความผิดปกติของเซลล์ต้นกำเนิดหรือเซลล์เม็ดเลือดเป็นผลให้ไขกระดูกมีการสร้างเซลล์เม็ดเลือดในปริมาณที่ผิดปกติ การรักษาโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวโดยยาเคมีบำบัด (chemotherapy) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ แต่พบว่าการดื้อยาแบบหลายชนิด (Multidrug resistance; MDR) เป็นปัญหาหลักของการรักษา ปัจจุบันพบว่ามีสองกลไกที่สำคัญที่ทำให้เกิดการดื้อยา คือ การแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของ พี-ไกลโคโปรตีน (P-glycoprotein; P-gp) บนผิวเซลล์มะเร็ง และการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นของโปรตีนในกลุ่ม โปรตีนยับยั้งอะพอพโทซิส)Inhibitor of apoptosis proteins; IAPs) ได้แก่ เซอร์ไววิน (survivin) อย่างไรก็ตามกลไกการควบคุมโปรตีนดังกล่าวของมะเร็งเม็ดเลือดขาวดื้อยายังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด โมเลกุล CD147 เป็นโปรตีนที่มีความหลากหลายของหน้าที่ และพบว่า CD147 มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นในเซลล์มะเร็งและเกี่ยวข้องกับการดื้อยาแบบหลายชนิดของเซลล์มะเร็งหลายชนิด อย่างไรก็ตามยังไม่มีการรายงานความสัมพันธ์ของพี-ไกลโคโปรตีน เซอร์ไววินกับโมเลกุล CD147 ในการควบคุมการดื้อยาแบบหลายขนานของมะเร็งเม็ดเลือดขาว ร่วมกับปัจจุบันโมโนโคลนอล แอนติบอดีจัดเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการศึกษาการแสดงออกและการทำงานของโปรตีนที่สนใจ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ของการแสดงออกของโมเลกุล CD147 พี-ไกลโคโปรตีนและโปรตีนเซอร์ไววิน ในการควบคุมการดื้อยาของมะเร็งเม็ดเลือดขาวโดยใช้โมโนโคลนอล แอนติบอดีต่อ CD147 ในการทดลอง การศึกษาการแสดงออกของ พี-ไกลโคโปรตีน เซอร์ไววินและโมเลกุล CD147 โดยโฟลไซโตเมตรี เวสเทิร์น บล็อททิง และอาร์ทีพีซีอาร์ พบว่าโมเลกุลทั้งสามชนิดมีการแสดงออกที่เพิ่มมากขึ้นในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวที่ดื้อยา K562/Adr ทั้งในระดับโปรตีนและเอ็มอาร์เอ็นเอแสดงให้เห็นว่า ความสัมพันธ์ของพี-ไกลโคโปรตีน เซอร์ไววินและโมเลกุล CD147 ของมะเร็งเม็ดเลือดขาวดื้อยา เพื่อศึกษาการควบคุมผ่าน CD147 ต่อการแสดงออกของพี-ไกลโคโปรตีนและเซอร์ไววิน จึงนำโมโนโคลนอล แอนติบอดีต่อ CD147 ได้แก่ M6-1E9 M6-1D4 MEM-M6/1และ MEM-M6/6 มาใช้ในการทดลอง พบว่ามีเพียงโมโนโคลนอล แอนติบอดีต่อ CD147 โคลน MEM-M6/6 เท่านั้นที่สามารถลดการแสดงออกของ พี-ไกลโคโปรตีนและเซอร์ไววินในระดับโปรตีนและเอ็มอาร์เอ็นเอของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวดื้อยา K562/Adr เปรียบเทียบกับสภาวะที่ไม่เติม

แอนติบอดี แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการควบคุมการแสดงออกของ พี-ไกลโคโปรตีนโดยโมเลกุล CD147 ไม่ผ่านการส่งสัญญาณทาง MAPK/ERK ในทางตรงกันข้ามพบว่า MEM-M6/6 ไม่มีผลต่อการทำงานของ พี-ไกลโคโปรตีนและเซอร์ไววินในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวดื้อยา K562/Adr ผลการทดลองสรุปได้ว่าโมโนโคลนอล แอนติบอดีต่อ CD147 (MEM-M6/6) ลดการแสดงออกของ พี-ไกลโคโปรตีนและเซอร์ไววินในระดับโปรตีนและเอ็มอาร์เอ็นเอของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวดื้อยา แต่ไม่มีผลต่อการทำงานของพี-ไกลโคโปรตีนและเซอร์ไววิน จากการศึกษานี้เป็นการรายงานครั้งแรกที่แสดงให้เห็นว่าโมเลกุล CD147 เกี่ยวข้องกับมะเร็งเม็ดเลือดขาวดื้อยาโดยการควบคุมผ่านการแสดงออกของพี-ไกลโคโปรตีนและเซอร์ไววิน

คำหลัก : การดื้อยาแบบหลายขนาน มะเร็งเม็ดเลือดขาว พี-ไกลโคโปรตีน CD147 เซอร์ไววิน

Project Code: **RSA5580030**

Project Title: Molecular Mechanism of CD147 Driving MDR Phenotype by Regulating *MDR1* and *Survivin* Gene Expression in K562 Resistant Leukemic Cell Line

Investigator: Asst. Prof. Dr. Sawitree Chiampanichayakul Division of Clinical Miroscopy, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand

E-mail Address: sawitree.chiampa@cmu.ac.th

Project Period: 3 years

Abstract

Leukemia is a hematologic malignant disease and results in the high number of abnormal white blood cells. While chemotherapy is the most effective treatment, multidrug resistance (MDR) is a major problem. Two major mechanisms have been proposed to promote MDR that are the overexpression of ATP-binding cassette (ABC) drug transporter proteins, P-glycoprotein (P-gp, ABCB1, MDR1), and increased expression of inhibitor of apoptosis proteins (IAPs) such as survivin. However, the regulation mechanisms of these proteins are unclear. CD147, a functional molecule, has been reported that it was overexpressed and involved in the multidrug resistance of various cell lines. However, the relative of P-gp, survivin, and CD147 in the regulation of multidrug resistance in leukemia have not been reported. To date, monoclonal antibodies (mAbs) have been used as a powerful tool to study expression and function of target proteins. In this study aimed to determine the linkage exists between the expression of CD147, P-gp, and survivin in the regulation of drug resistance in leukemic cell line using mAbs against CD147. The studies of P-gp, survivin, and CD147 expressions were investigated by flow cytometry, Western blotting, and RT-PCR. The P-gp, survivin, and CD147 expressions showed the significant increase both protein and mRNA levels in drug resistant K562/Adr cells suggesting the involvement of P-gp, survivin and CD147 in drug resistance leukemic cells. To determine the regulatory effect of CD147 on P-gp and survivin expression, mAbs agianst CD147 including M6-1E9, M6-1D4, MEM-M6/1, and MEM-M6/6 were used. It was found that MEM-M6/6 clones decreased the P-gp and survivin mRNA and protein levels in drug resistant K562/Adr cells as compared to K562/Adr cells without mAbs. Moreover, CD147-mediated expression of P-gp was not blocked by U0126 (inhibitor of MAPK/ERK). In contrast, treatments of anti-CD147 mAbs MEM-M6/6 had no effects on P-gp and survivin functions in K562/Adr cells. In summary, mAbs against CD147 (MEM-M6/6) can decrease P-gp and survivin

expression in both mRNA and protein levels but not P-gp and survivin functions. This knowledge, this is the first report showing CD147 mediates leukemia with multidrug resistance phenotype through regulation of P-gp and survivin expressions.

Keywords: Multidrug resistance, Leukemia, P-glycoprotein, CD147, survivin