

Thesis Title Expression and Biological Activity of Urokinase-Type Plasminogen Activator in CD147-knockdown Cervical Cancer Cells (HeLa) by Intrabody Technology

Author Miss Tipattaraporn Panich

Degree Master of Science (Medical Technology)

Thesis Advisory Committee

Dr. Nutjeera Intasai	Advisor
Asst. Prof. Dr. Khajornsak Tragoolpua	Co-advisor
Assoc. Prof. Dr. Chatchai Tayapiwatana	Co-advisor

ABSTRACT

CD147 is a type I transmembrane glycoprotein that highly expressed on various cancers. Overexpression of CD147 is correlated with tumor progression in cancers. Its ability is not only to stimulate matrix metalloproteinases (MMPs) expression but also to enhance urokinase-type plasminogen activator (uPA) expression. uPA is a serine proteases that catalyzes the conversion of the inactive zymogen plasminogen into the active serine protease plasmin, which degrades a number of extracellular matrix proteins. uPA-catalyzed plasminogen activation plays a crucial role in tumor progression towards the metastatic phenotype. Perturbation of CD147 cell surface expression in tumor cells may affects uPA expression and

attenuates the invasiveness of cancers. In this study, intrabody technique was introduced to inhibit CD147 expression on cell surface of a tumorigenic cervical cancer cell line, HeLa cells. scFv-M6-1B9 intrabodies to CD147 down-regulated the expression of uPA as measured by Western blot analysis. In addition, casein-plasminogen zymography revealed that uPA activity in tissue culture medium of the CD147 knockdown HeLa cells was strongly attenuated. Furthermore, tumor invasion ability of CD147 knockdown HeLa cells was decreased as measured by Matrigel invasion assay. Taken together, these results indicate that scFv-M6-1B9 intrabodies to CD147 reduces cell invasion in HeLa cells *via* dysregulation of uPA. CD147 intrabody may be beneficial in metastatic cancer treatment.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การแสดงออกและคุณสมบัติทางชีวภาพของพลาสมิโนเจนแอค
ติเวเตอร์ ชนิดยูโรไคเนส ในเซลล์มะเร็งปากมดลูก (เฮลา) ที่ถูกกลด
การแสดงออกของซีดี 147 โดยเทคโนโลยี อินทราโบดี

ผู้เขียน

นางสาวทิภัทรพร พานิช

ปริญญา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

อ.ดร. ณัฐจิรา อินตะใส

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

ผศ.ดร. ขจรศักดิ์ ตระกูลพั้ว

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

รศ.ดร. ชัชชัย ตะยาภิวัฒนา

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

CD147 เป็นไกลโคโปรตีนที่แทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ชนิดที่ 1 ที่แสดงออกสูงในมะเร็ง
หลากหลายชนิด โดยพบว่าการแสดงออกที่มากผิดปกติของ CD147 มีส่วนเกี่ยวข้องกับการพัฒนา
ของมะเร็ง CD147 ไม่เพียงแต่สามารถกระตุ้นการแสดงออกของ matrix metalloproteinases
(MMPs) เท่านั้น แต่ยังสามารถกระตุ้นการแสดงออกของ urokinase-type plasminogen activator
(uPA) uPA จัดเป็นเซอรินโปรติเอสที่สามารถย่อย inactive zymogen plasminogen ให้เปลี่ยนเป็น
active serine protease plasmin ที่มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาในด้านการแพร่กระจายของ
เซลล์มะเร็ง หากมีการรบกวนการแสดงออกของ CD147 ที่ผิวเซลล์มะเร็งอาจส่งผลต่อการ
แสดงออกของ uPA และลดการรุกรานของเซลล์มะเร็งได้ การศึกษาในครั้งนี้ใช้เทคนิคอินทราโบดี
เพื่อลดการแสดงออกของ CD147 ที่ผิวเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) โดยพบว่า scFv-M6-1B9

intrabodies ต่อ CD147 ลดการแสดงออกของ uPA จากการตรวจวัดด้วยวิธี Western blot analysis และพบว่าคุณสมบัติทางชีวภาพของ uPA ลดลงจากการตรวจวัดด้วยวิธี casein-plasminogen zymography นอกจากนี้ยังพบว่า ความสามารถในการรุกรานของเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ที่ถูกลดการแสดงออกของ CD147 ลดลงเมื่อตรวจวัดด้วยวิธี Matrigel invasion assay จากผลการศึกษาทั้งหมดแสดงให้เห็นว่า scFv-M6-1B9 intrabodies ต่อ CD147 สามารถลดการรุกรานของเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) ผ่านการรบกวนการทำงานของ uPA CD147 intrabody จึงอาจจะมีประโยชน์ในการรักษาโรคมะเร็งที่มีการแพร่กระจาย