

Thesis Title	Role of Single-Chain Variable Fragment Specific to CD147 in Expression of Proteins Associated with Metastatic Processes of Colorectal Cancer Cells
Author	Miss Sirikwan Sangboonruang
Degree	Master of Science (Medical Technology)
Thesis Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Khajornsak Tragoolpua Advisor Assoc. Prof. Dr. Chatchai Tayapiwatana Co-advisor

ABSTRACT

CD147 has a board expression on both hematopoietic and non-hematopoietic cells that is involved in many physiological functions. It is highly expressed on the surfaces of many kinds of cancer cells. Its overexpression can promote the progression and metastatic potentials of cancer via the interaction with various associated molecules. The scFv-M6-1B9 intrabody specific to CD147 or scFv-M6-1B9 intrabody has a potential ability on lessening of CD147 cell surface expression, however, the subsequent effect of associated molecules which are MCT1, $\alpha 3\beta 1$ -integrin, MMP-2 and MMP-9 are unknown. In the present study, we purposed to down-regulate CD147 cell surface expression on colorectal cancer or CaCo2 cells by scFv-M6-1B9 intrabody and investigated this effect on the expression of related molecules as well as metastatic phenotypes of cancer cells such as cell proliferation,

migration and invasion. The results showed that scFv-M6-1B9 intrabody reduced the expression of CD147 on CaCo2 cell surface by 50% resulting in mediate intracellular accumulation of MCT1 and decrease $\alpha 3\beta 1$ -integrin cell surface expression. *In vitro*, scFv-M6-1B9 intrabody also inhibited cell proliferation by 52% using MTT assay and demonstrated 40 % decreasing of cell migration by wound healing assays. Moreover, the influent of scFv-M6-1B9 intrabody on cell invasion was examined by Matrigel-coated invasion assay. The result showed that scFv-M6-1B9 intrabody suppressed the invasion of CaCo2 cells by 64%. Nevertheless, there had no significantly effect on the activities and mRNA expression of MMP-2 and MMP-9 by Gelatin zymography and real-time qRT-PCR, respectively. In conclusion, scFv-M6-1B9 intrabody demonstrated a great potential to reduce CD147 expression and influence on MCT1 and $\alpha 3\beta 1$ integrin expression. It also affects the proliferation, migration and invasion ability of CaCo2 cells. This may be utilized as a promising alternative approach for cancer gene therapy in the future.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

บทบาทของซิงเกิ้ล-เซน แวเรียเบิลแฟรกเมนต์ที่จำเพาะต่อ
ซีดี 147 ต่อการแสดงออกของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ
กระบวนการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่

ผู้เขียน

นางสาวศิริขวัญ แสงบุญเรือง

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. ขจรศักดิ์ ตระกูลพัว

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

รศ. ดร. ชัชชัย ตะยาภิวัฒนา

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

CD147 เป็นโมเลกุลที่พบว่ามี การแสดงออกได้ทั่วไปทั้ง hematopoietic และ non hematopoietic cells ซึ่งมีบทบาทเกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ต่างๆ ทางด้านสรีรวิทยาของเซลล์ และ ยังพบว่ามี การแสดงออกในระดับที่สูงในเซลล์มะเร็งหลายชนิด การแสดงออกของ CD147 ที่เพิ่มมากขึ้น จะส่งเสริมความสามารถในการพัฒนา และการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ผ่านการทำงาน ร่วมกับโมเลกุลที่เกี่ยวข้องหลายชนิด ซิงเกิ้ล-เซน แวเรียเบิลแฟรกเมนต์ ที่จำเพาะต่อ CD147 หรือ scFv-M6-1B9 intrabody สามารถลดการแสดงออกของ CD147 บนผิวเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม การลดการแสดงออกของ CD147 โดยอาศัย scFv-M6-1B9 intrabody ที่ส่งผลต่อการแสดงออกของโมเลกุลที่เกี่ยวข้องซึ่งได้แก่ MCT1, $\alpha 3 \beta 1$ -integrin, MMP-2 และ MMP-9 ยังไม่มีการศึกษามาก่อน ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อลดการแสดงออกของ CD147 บนผิวเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด CaCo2 โดยอาศัย scFv-M6-1B9 intrabody และทำการศึกษาผลการลดการแสดงออกของ CD147 นี้ ต่อการแสดงออกของโมเลกุลที่เกี่ยวข้อง รวมถึงผลกระทบต่อกระบวนการต่างๆ ที่ส่งเสริมการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ซึ่งได้แก่ การเพิ่มจำนวน การเคลื่อนที่ และการบุกรุกของเซลล์มะเร็งจากการศึกษาพบว่า scFv-M6-1B9 intrabody สามารถลดการแสดงออกของ CD147 บนผิวเซลล์ CaCo2 ได้ 50% ซึ่งส่งผลต่อการคั่งของ MCT1 ภายในไซโตพลาสซึม และลดการแสดงออกบนผิวเซลล์ของ $\alpha 3 \beta 1$ -integrin เมื่อทำการศึกษาในหลอดทดลองพบว่า scFv-M6-1B9 intrabody มีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็งได้ 52% โดยอาศัยเทคนิค MTT assay และ

ส่งผลต่อการเคลื่อนที่ที่ลดลงของเซลล์มะเร็ง 40% เมื่อทำการศึกษาด้วยเทคนิค wound-healing assay รวมถึงการศึกษาค้นคว้าการบุกรุกของเซลล์มะเร็ง ด้วยเทคนิค Matrigel-coated invasion assay พบว่า scFv-M6-1B9 intrabody ลดการบุกรุกของเซลล์มะเร็งได้ 64% ในขณะที่ไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์และการแสดงออกในระดับ mRNA ของ MMP-2 และ MMP-9 จากการศึกษาด้วยเทคนิค Gelatin Zymography และ real-time qRT-PCR ตามลำดับ จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า scFv-M6-1B9 intrabody สามารถลดการแสดงออกของ CD147 ได้อย่างมีประสิทธิภาพและยังมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของ MCT1 และ $\alpha 3 \beta 1$ -integrin รวมถึงกระบวนการเพิ่มจำนวน การเคลื่อนที่ และการบุกรุกของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ ชนิด CaCo2 ดังนั้น scFv-M6-1B9 intrabody จึงอาจนำมาใช้เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรคมะเร็งด้วยยีนบำบัดในอนาคต