

การศึกษาโปรตีโอมิกส์ของมะเร็งช่องปากของคนไทยในภาคใต้
Proteomics Study of Oral Cancer in Thai Population in the South of Thailand

พิทักษ์ จันทรธรรมาชาติ
Pitak Chanthammachat

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชากายวิภาคศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Anatomy
Prince of Songkla University

2552

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์


๖
เลขหมู่ QP 552.P25 W63 2552 ๘.1
Bib Key ๖443๑7
16. ธ.ย. 2554

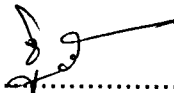
(1)

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาโปรตีนโอมิกซ์ของมะเร็งช่องปากของคนไทยในภาคใต้
ผู้เขียน นายพิทักษ์ จันทร์ธรรมชาติ
สาขาวิชา กายวิภาคศาสตร์


อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก


คณะกรรมการสอบ

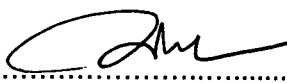

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ พรหมวิกร)

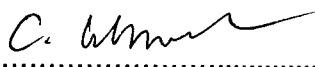

.....ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร. ม.ร.ว. ชินนุสรณ์ สวัสดิวัตน์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

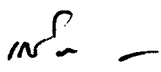

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ พรหมวิกร)


.....
(รองศาสตราจารย์ พญ.ปารมี ทองสุกใส)


.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ พญ.ปารมี ทองสุกใส)


.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชิตชนก ลิขนะกุล)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา กายวิภาคศาสตร์


.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาโปรตีโอมิกส์ของมะเร็งช่องปากของคนไทยในภาคใต้
ผู้เขียน นายพิทักษ์ จันทร์ธรรมชาติ
สาขาวิชา กายวิภาคศาสตร์
ปีการศึกษา 2551

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแสดงออกและระบุชนิดของโปรตีนในเนื้อเยื่อมะเร็งช่องปากที่แสดงออกแตกต่างจากเนื้อเยื่อปกติ และค้นหาโปรตีนที่อาจเป็นตัวบ่งชี้การมีโอกาสมะเร็งช่องปาก โดยวิธี two-dimension polyacrylamide gel electrophoresis (2D SDS-PAGE) และย้อมสีโปรตีนด้วยสารละลาย silver nitrate การระบุชนิดและคุณสมบัติของโปรตีนวิเคราะห์จาก peptide mass fingerprint และ partial peptide sequence ด้วยเครื่อง mass spectrometer เนื้อเยื่อที่ใช้ศึกษาเป็นเนื้อเยื่อปกติ และเนื้อเยื่อมะเร็งของผู้ป่วยมะเร็งช่องปากจำนวน 12 ราย ซึ่งเป็นผู้ป่วยมะเร็งระยะเริ่มต้น และระยะท้าย กลุ่มละ 5 ราย ระยะก่อนลุกลาม และมะเร็งที่เกิดซ้ำ กลุ่มละ 1 ราย ผลการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยาพบว่า เนื้อเยื่อมะเร็งมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์และองค์ประกอบของเนื้อเยื่อต่างไปจากเยื่อเมือกช่องปากปกติของผู้ป่วยระยะก่อนลุกลาม และเปลี่ยนแปลงมากขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งช่องปากระยะเริ่มต้นและระยะท้าย ผลการศึกษาด้วย 2D SDS-PAGE พบว่า 1) ลักษณะการแสดงออกของจุดโปรตีนในเนื้อเยื่อมะเร็งระยะก่อนลุกลามมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเนื้อเยื่อปกติและการเปลี่ยนแปลงของจุดโปรตีนมีความชัดเจนมากขึ้นในผู้ป่วยมะเร็งระยะเริ่มต้นและระยะท้าย ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยา 2) ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งระยะท้ายมีลักษณะการแสดงออกของจุดโปรตีนในเนื้อเยื่อปกติคล้ายกับของเนื้อเยื่อมะเร็งมากขึ้น และ 3) จุดโปรตีนในเนื้อเยื่อมะเร็งที่เกิดซ้ำมีลักษณะการแสดงออกคล้ายคลึงกับของเนื้อเยื่อมะเร็งระยะเริ่มต้น ผลการวิเคราะห์ความเข้มของจุดโปรตีนด้วยโปรแกรม Image Master 2D Platinum พบว่า มีโปรตีนในเนื้อเยื่อมะเร็งจำนวน 245 จุด ที่แสดงออกแตกต่างจากเนื้อเยื่อปกติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในจำนวนนี้มีโปรตีนจำนวน 46 จุด ที่แสดงออกสอดคล้องกันระหว่างเนื้อเยื่อมะเร็งระยะก่อนลุกลามกับเนื้อเยื่อมะเร็งระยะเริ่มต้น และมีโปรตีนจำนวน 26 จุด และ 12 จุด ที่แสดงออกสอดคล้องกันระหว่างมะเร็งที่เกิดซ้ำกับเนื้อเยื่อมะเร็งระยะเริ่มต้น และมะเร็งระยะท้าย ตามลำดับ การระบุชนิดของโปรตีนได้ผลสำเร็จจำนวน 50 ชนิด โดยเป็นโปรตีนที่มีการรายงานแล้วในมะเร็งช่องปาก จำนวน 39 ชนิด และเป็นโปรตีนที่ยังไม่เคยมีการรายงานในมะเร็งช่องปากมาก่อน จำนวน 11 ชนิด และในจำนวน 50 ชนิดนี้ พบ 19 ชนิด เป็นโปรตีนที่แสดงออกสอดคล้องกันระหว่างเนื้อเยื่อมะเร็งระยะก่อนลุกลามกับเนื้อเยื่อมะเร็งระยะเริ่มต้น และพบ 6 ชนิด และ 2 ชนิด เป็นโปรตีนที่แสดงออกสอดคล้องกันระหว่างเนื้อเยื่อมะเร็งที่เกิดซ้ำกับเนื้อเยื่อมะเร็งระยะเริ่มต้น และมะเร็งระยะท้าย ตามลำดับ จากการศึกษาคุณสมบัติของโปรตีนที่ระบุได้ พบว่า เซลล์มะเร็งมีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติต่างไปจากเซลล์ปกติคือ มีการสร้างโปรตีนเพิ่มขึ้น เพิ่มจำนวนเซลล์ มีการตายลดลง เปลี่ยนแปลงรูปร่างไปจากเซลล์ปกติ เคลื่อนตัวไปบริเวณอื่น สร้างพลังงานมากขึ้น และถ่ายทอดสัญญาณภายในเซลล์มากขึ้น สุดท้ายสามารถสรุปโปรตีนชนิดใหม่ที่อาจมีศักยภาพเป็นโปรตีนตัวบ่งชี้การมีโอกาสมะเร็งช่องปากในระยะก่อนลุกลาม และในระยะแรกเริ่ม จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ Elongation factor 2, Horf6 และ HSPA8 isoform 2 ผลการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์เพื่อหาวิธีวินิจฉัยโรคมะเร็งช่องปากได้รวดเร็วและง่ายขึ้น และค้นหาวิธียับยั้งการแสดงออกของยีนและ/หรือโปรตีนที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง

Thesis Title Proteomics study of oral cancer in Thai populations in the South of Thailand
Author Mr. Pitak Chanthammachat
Major Program Anatomy
Academic Year 2008

ABSTRACT

This study was aimed to investigate the expression and identification of differentially expressed proteins in oral cancer, and to find new potential biomarkers of oral cancer using two dimension sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (2D SDS-PAGE) and silver staining method. Identifications of proteins were characterized from peptide mass fingerprint and partial peptide sequence by mass spectrometers. The samples were taken from 12 oral cancer patients. Normal oral tissues were also collected for being a control group. Each of 5 patients were in early and late stage cancer, and 2 patients were each in carcinoma in situ stage and recurrent tumor. Histological study revealed that oral cancer was changed in cell morphology and tissue components according to the stages of tumor. The 2D SDS-PAGE showed that 1) the protein profiling of pre-malignant oral cancer (carcinoma in situ) was different from that of the normal tissue. The difference was more obvious, when the tumor was in early and late stage cancer, 2) in patients of late stage cancer the protein expression profiling of normal tissue was similar to that of cancer, and 3) the protein profiling of recurrent tumor was similar to that of cancer in patients of early stage cancer. The protein spot intensity was next analyzed using the ImageMaster 2D Platinum software. The result showed that 245 protein spots were significantly different between cancer and normal tissues ($p < 0.05$). Forty six spots in carcinoma in situ were expressed in a similar manner to early stage cancer. Twenty six spots and 12 spots in recurrent tumor were expressed in similar manners to early and late stage cancer, respectively. Identifications and functions of 50 proteins were successfully characterized. Some 39 of 50 proteins have been previously reported, while the other 11 proteins have never been reported associated to oral cancer. Some 19 of 50 proteins were similarly expressed in carcinoma in situ and early stage cancer. Some 6 and 2 of 50 proteins were similarly expressed in recurrent tumor and either early, or late stage tumors. It is suggested that oral cancer cells function differently from the normal cells; including, increased protein synthesis, increased cell proliferation, increased energy synthesis, increased signal transduction, decreased apoptosis, morphological change and migration. Finally, 3 proteins that could be new potential markers for indicating carcinoma in situ and early stage oral cancer were suggested. These were included Elongation factor 2, Horf6 and HSPA8 isoform 2. These proteins can be further used for fast and easy diagnosis of oral carcinoma in situ, and used as target proteins for gene and/or protein manipulation to inhibit or retard oral cancer progression.