IMMUNE EVASION STRATEGIES OF COLORECTAL CANCER

KAWIN LEELAWAT

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF PHILOSOPHY (ANATOMY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2003**

ISBN 974-04-4138-6

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

กลไกการหลบหลีกภูมิคุ้มกันของมะเร็งลำไส้ใหญ่ (IMMUNE EVASION STRATEGIES OF COLORECTAL CANCER)

กวิญ ลีละวัฒน์ 4236744 SCAN / D

ปร.ด. (กายวิภาคศาสตร์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วิจิตรา เลิศกมลกาญจน์, Ph.D., ทาเคชิ วาตานาเบ, MD.,Ph.D.

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปรากฏของโมเลกุล ซึ่งมีฤทธิ์ในการกดภูมิคุ้มกันของร่างกาย ประกอบด้วย Receptor-binding Cancer Antigen expressed on SiSo cells 1 (RCAS1), FasL, p53 mutation, Transforming growth factor- (TGF)-β, Interleukin- (IL)-10 และ Human Leukocyte Antigen- (HLA)-G ในมะเร็งลำไส้ใหญ่ ตามระยะของโรค (Staging) ตั้งแต่ระยะเริ่มต้นถึงระยะลุกลาม (StageI-StageIV) ที่ได้จากการผ่าตัดผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลราชวิถี ตั้งแต่ปี 2544- ปี 2546

การศึกษาการปรากฏของโมเลกุลเหล่านี้ด้วยวิธี Immunohistochemical staining และ RT-PCR พบว่า RCAS1 และ FasL ถูกสร้างจากเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ในทุกระยะของโรค โดยมีการสร้างมากขึ้น อย่างมีนัยสำคัญ ตามระยะของโรค ส่วน p53 ถูกสร้างในระยะสองขึ้นไป และพบได้ร้อยละ 71.67 การสร้าง p53 ไม่มีความสำคัญกับระยะของโรคแต่อย่างใด โมเลกุล TGF-β ถูกสร้างมากในระยะสามขึ้นไป พบได้ร้อยละ 41.6 และการสร้างมีความสัมพันธ์ อย่างมีนัยสำคัญ กับระยะของโรค สำหรับโมเลกุล IL-10 พบว่าถูกสร้างมากเฉพาะในระยะที่หนึ่งและสองของโรค พบได้ร้อยละ 28.3 และการสร้างมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับระยะของโรค ส่วนโมเลกุล HLA-G ไม่พบว่าถูกสร้างในมะเร็งลำไส้ใหญ่

โมเลกุล RCAS1 ยังได้ถูกตรวจพบด้วยวิธี Immunohistochemistry ในเซลล์มะเร็งที่กระจายไปต่อมน้ำเหลืองและตับทั้งหมด (ร้อยละ 100) และการศึกษาโมเลกุล RCAS1 ด้วยวิธี In situ hybridization พบว่า mRNA ของ RCAS1 ถูกสร้างเฉพาะในเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่เท่านั้น ไม่ได้สร้างในเซลล์ลำไส้ หรือเซลล์เม็ดเลือดขาว อย่างไรก็ตามการตรวจปริมาณโมเลกุล RCAS1 ในซีรัมด้วยวิธี ELISA ไม่พบว่ามีความแตกต่างระหว่างคนปกติกับผู้ป่วยมะเร็งลำไส้ใหญ่

144 หน้า ISBN 974-04-4138-6

IMMUNE EVASION STRATEGIES OF COLORECTAL CANCER

KAWIN LEELAWAT 4236744 SCAN/D

Ph.D. (ANATOMY)

THESIS ADVISORS: VIJITTRA LEARDKAMOLKARN, Ph.D., TAKESHI WATANABE, MD., Ph.D.

ABSTRACT

This study investigated molecules expressed by tumor cells used for evasion of host immune system during the steps of colorectal tumorigenesis. These molecules included a Receptor-binding Cancer Antigen expressed on SiSo cells 1 (RCAS1), FasL, Transforming growth factor- (TGF)-β, Interleukin- (IL)-10, p53 mutation protein and Human Leukocyte Antigen- (HLA)-G. Specimens from colorectal cancer were examined for proteins and mRNA expressions by immunohistochemistry and RT-PCR techniques. In addition, RNA in situ hybridization was performed to identify the site of RCAS1 mRNA in the colorectal cancer specimens. The sandwich ELISA was measured for the presence of RCAS1 protein in the serum samples. The immunostaining and RT-PCR of RCAS1 were found in good correlation with the clinical stages of colorectal cancer. The in situ hybridization for RCAS1 mRNA demonstrated that RCAS1 was transcribed from the tumor cells. Positive serum RCAS1 concentration was found at 47.5% in stage II and 37.5% in stage III and IV, but was not found in stage I. The expression of FasL was detected in all (100%) specimens of colorectal cancer as well as its premalignant lesions. The expression of TGF-β was demonstrated in 41.67% (25/60 cases) of colorectal cancer specimens. IL-10 expression was increased in the early stage of colorectal cancer but decreased in the late stage. Although p53 mutation was positive in most cases (71.67%), the expression was not correlated with FasL expression. Surprisingly, no expression of HLA-G was determined in all colorectal specimens (0/85).

These results indicated that several proteins produced from colorectal cancer play independent roles in tumor progression and tumor evasion of the immune system.

KEY WORDS: COLORECTAL CANCER / IMMUNE EVASION / RCAS1 / TGF-β / HLA-G / p 53 / Fas L / IL-10

144 p. ISBN 974-04-4138-6