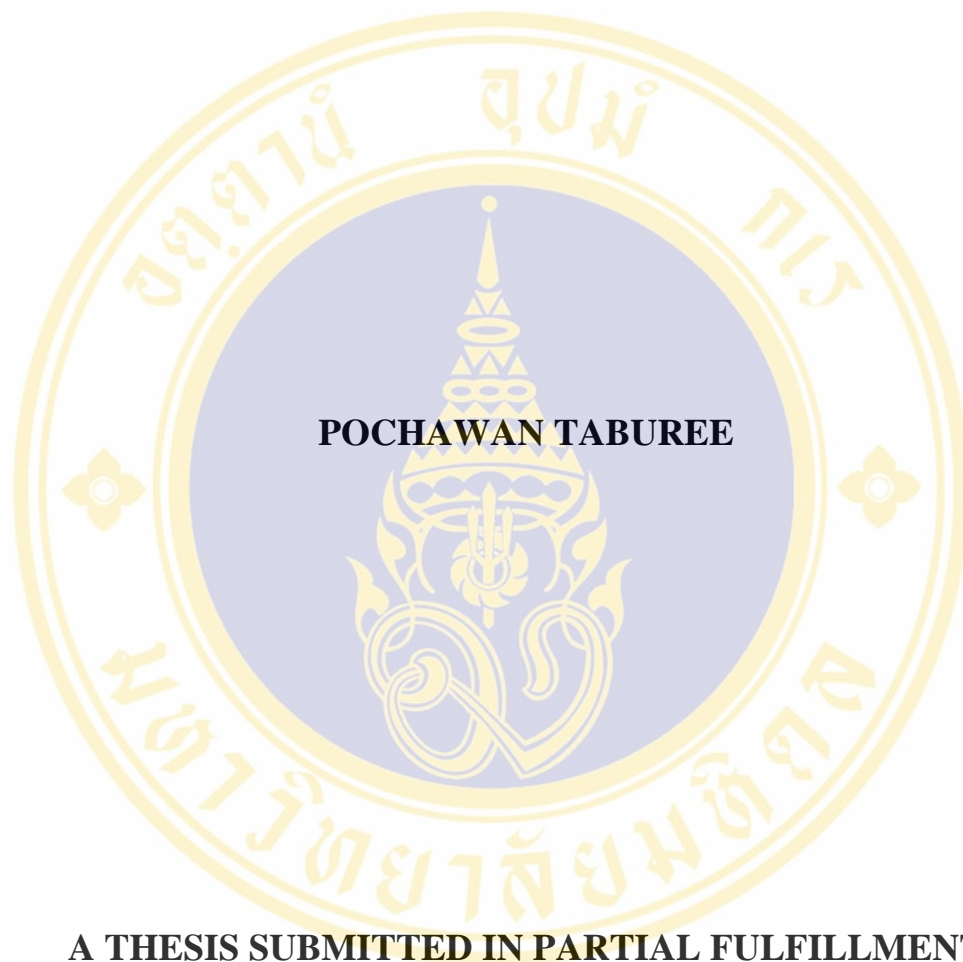


**EFFECT OF CYTOKINES ON APOPTOSIS  
OF LEUKEMIC CELL LINES**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
(MEDICAL TECHNOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2008**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

ผลของไซโตไคน์ต่อการเกิดอะพอพโตซิสในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว  
(EFFECT OF CYTOKINES ON APOPTOSIS OF LEUKEMIC CELL LINES)

พจวัลย์ ดาบุรี 4837277 MTMT/M

วท.ม. (เทคนิคการแพทย์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : คลินา ตันหยง, Ph.D., พิมพิชญา ปัทมสิริวัฒน์, Ph.D.,  
อังศุรา สุโกคเวช, Ph.D.

บทคัดย่อ

มะเร็งเม็ดเลือดขาวพบได้ทั้งในเด็กและในผู้ใหญ่ ปัจจุบันมีการนำสารไซโตไคน์บางชนิดมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาว โดยทำให้เกิดการกระตุ้นการตายแบบอะพอพโตซิส ในการวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาผลของสารไซโตไคน์ชนิด Interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) และ Tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) ในการกระตุ้นการตายแบบอะพอพโตซิสในเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด K562 และ HL60 ผ่านทาง caspase pathway โดยทำการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิดและทดสอบกับไซโตไคน์ที่ความเข้มข้นและเวลาต่าง ๆ กัน จากนั้นวัดปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ การยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ ลักษณะและปริมาณเซลล์ที่ตายแบบอะพอพโตซิส โดยย้อมด้วย Annexin-V-FITC และยังศึกษาปริมาณ subG1 ในวงจรของเซลล์ด้วยเครื่อง flow cytometer ผลการศึกษาพบว่าทั้ง IL-1 $\beta$  และ TNF- $\alpha$  สามารถลดจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิตและเพิ่มการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ ซึ่งสัมพันธ์กับการเพิ่มจำนวนเซลล์ตายแบบอะพอพโตซิสและปริมาณเซลล์ในระยะ subG1 มีค่าเพิ่มขึ้นด้วย ผลจากการศึกษาการตายแบบอะพอพโตซิส ผ่าน caspase pathway พบว่า IL-1 $\beta$  และ TNF- $\alpha$  สามารถกระตุ้นให้เกิด activated caspase 3 เพิ่มขึ้นในมะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งสองชนิด นอกจากนี้ IL-1 $\beta$  สามารถกระตุ้น activated caspase 8 และ 9 ในเซลล์มะเร็งชนิด HL60 ส่วน TNF- $\alpha$  สามารถกระตุ้น activated caspase 8 แต่ไม่สามารถกระตุ้นการทำงานของ activated caspase 9 ได้ในเซลล์มะเร็งทั้งสองชนิด จากการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า IL-1 $\beta$  และ TNF- $\alpha$  สามารถกระตุ้นการตายแบบอะพอพโตซิสในมะเร็งเม็ดเลือดขาวทั้งสองชนิด ผ่านทาง caspase pathway

110 หน้า

**EFFECT OF CYTOKINES ON APOPTOSIS OF LEUKEMIC CELL LINES**

POCHAWAN TABUREE 4837277 MTMT/M

M.Sc. (MEDICAL TECHNOLOGY)

THESIS ADVISORS: DALINA TANYONG, Ph.D., PIMPICHA PATMASIRIWAT, Ph.D., AUNGKURA SUPOKAWEJ, Ph.D.

**ABSTRACT**

Leukemia has a high incidence rate in children and also occurs in adults. Recently, some cytokines were used as immunotherapy for leukemic patients, which improved cancer therapy by induction of apoptosis. This study investigated the effect of cytokines, interleukin-1 beta (IL-1 $\beta$ ) and tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), on induction apoptosis in leukemic cell lines, K562 and HL60, via caspase cascade pathway. Leukemic cell lines were treated with cytokines in various concentrations and for various incubation times. Cell viability and growth inhibition were analysed by using trypan blue staining and MTT assay, respectively. Apoptotic cells were then stained with Annexin-V-FITC and analysed by flow cytometry. In addition, the involvement of caspase activation in the apoptotic pathway was investigated. The results indicated that percentage of cell viability was decreased, while cell growth inhibition and cell apoptosis were increased after treatment with 2 ng/ml of IL-1 $\beta$  or 20 ng/ml of TNF- $\alpha$  in both cell lines. The increased subG1 populations from cell cycle analysis indicated increased apoptotic cells. Caspase 3 activation was increased after IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  treatment. TNF- $\alpha$  could induced caspase 8 activation in both leukemic cell lines. Whereas, IL-1 $\beta$  treatment induced caspase 8 and 9 activation in HL60 cell. From the data it is suggested that IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  could induce cell apoptosis in both leukemic cell lines, via caspase cascade pathway.

**KEY WORDS : CYTOKINE / APOPTOSIS / LEUKEMIA**

110 pp.