



**ทูเมอร์เนคโตรอซิสแฟคเตอร์แอลฟาป้องกันการตาย
ของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี
โดยกระตุ้นขบวนการส่งสัญญาณ MAPK และ AKT
TNF-alpha Confers Apoptosis Resistance to Cholangiocarcinoma
Cells by Activating MAPK and AKT Signaling**

ปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลยาณ^{1*}, ฤทัยวรรณ ไต้ะทอง²

¹อาจารย์ประจำคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

²อาจารย์ประจำคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

*Email : r_panthip@hotmail.com

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ในการวิจัยในครั้งนี้ คือต้องการเข้าใจถึงสาเหตุที่ทำให้มะเร็งท่อน้ำดีเป็นมะเร็งที่มีความก้าวร้าวและต่อต้านการรักษาตามแบบแผนในปัจจุบัน ผู้วิจัยจึงทำการทดสอบที่จำเพาะลงไปถึงการต่อต้านทูเมอร์เนคโตรอซิสแฟคเตอร์แอลฟา (TNF-alpha) ในการฆ่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งต่างจากเซลล์มะเร็งชนิดอื่น ๆ การวิจัยในครั้งนี้ จึงได้ทดสอบกลไกการต่อต้านการฆ่าด้วยทูเมอร์เนคโตรอซิสแฟคเตอร์แอลฟาโดยใช้เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-100 ซึ่งได้จากผู้ป่วยคนไทยมาเป็นต้นแบบ การทดสอบด้วยวิธีเอ็มทีที พบว่า การใส่ทูเมอร์เนคโตรอซิสแฟคเตอร์แอลฟาที่มีความเข้มข้นถึง 80 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่ส่งผลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี อย่างไรก็ตาม การเพิ่มความเข้มข้นของทูเมอร์เนคโตรอซิสแฟคเตอร์แอลฟามีผลต่อการเพิ่มระดับของ pMAPK1/2 และ pAKT ซึ่งชี้ให้เห็นว่าขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ/หรือ AKT อาจเกี่ยวข้องกับการต่อต้านการฆ่าเซลล์มะเร็งด้วยทูเมอร์เนคโตรอซิสแฟคเตอร์แอลฟา ดังนั้น จึงได้ทดสอบโดยยับยั้งขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK หรือ AKT โดยใช้ U0126 หรือ LY294002 ซึ่งเป็นตัวยับยั้ง MEK1/2 และ AKT ตามลำดับ และประเมินผลการยับยั้งขบวนการส่งสัญญาณนี้ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-100 ร่วมกับภาวะที่มีทูเมอร์เนคโตรอซิสแฟคเตอร์แอลฟา ผลการทดสอบพบว่า ภาวะร่วมกันนี้ มีผลต่อการลดลงของการอยู่รอดของเซลล์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับภาวะที่มีทูเมอร์เนคโตรอซิสแฟคเตอร์แอลฟาหรือตัวยับยั้งเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ ผลการทดสอบในภาวะนี้ยังสอดคล้องกับการเกิดอะพอพโทซิสที่เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ



เมื่อทดสอบด้วยการย้อมสี DAPI สรุปรูปภาพรวม ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์แอลฟากระตุ้นขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT เป็นคุณลักษณะสำคัญในการต่อต้านการฆ่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งเป็นสาเหตุของความก้าวหน้าในมะเร็งท่อน้ำดี

คำสำคัญ : ทูเมอร์เนโครซิสแฟกเตอร์ MAPK AKT

Abstract

The objective of this study was to understand what made cholangiocarcinoma an aggressive cancer and why it is resistant to conventional therapy. Specifically, we aim to determine why, unlike many cancer cell types, cholangiocarcinoma cells are tolerant to killing induced by TNF- α . Here, the underlying mechanism of this tolerance was investigated using KKU-100, a cholangiocarcinoma cell line derived from a Thai patient as a model. Treatment with TNF- α up to 80 ng/ mL had no significant effect on KKU-100 cell viability as determined by MTT assay. However, increasing concentrations of TNF- α enhanced pMAPK1/2 and pAKT levels, suggest that activation of MAPK and/or AKT signaling pathways might be responsible for tolerance to TNF- α -induced cell death. This idea was tested by blocking the MAPK or AKT signaling pathways with U0126 or LY294002, a MEK1/2 or an AKT inhibitor, respectively, and assessing the effects of this blocking in the TNF- α -treated KKU-100 cells. The results showed that the combination therapy significantly reduced cell viability in KKU-100 cells compared to monotherapy with TNF- α or the inhibitor alone. In addition, significantly more apoptotic nuclei were induced as shown by nuclear staining with DAPI. Together, results of this study show that MAPK and AKT signaling pathways were activated by TNF- α and this may be an important attribute to TNF- α tolerance which underlies the aggressiveness in cholangiocarcinoma cells.

Keywords : TNF- α , MAPK, AKT



บทนำ

มะเร็งท่อน้ำดี มีปัจจัยเสี่ยงมาจากการอักเสบเรื้อรัง เช่น การติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*Opisthorchis viverrini* (OV)) ซึ่งระบาดมากในประเทศไทยและประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้⁽¹⁾ วิธีการรักษาที่ดีที่สุดคือ การผ่าตัด แต่ผู้ป่วยประมาณ ร้อยละ 70-90 จะมีพยาธิสภาพที่ทำให้ไม่สามารถผ่าตัดได้ และในผู้ที่สามารถผ่าตัดได้ มีอัตราสูงในการกลับมาเป็นซ้ำอีก และอัตราการรอดชีวิต 5 ปี อยู่ที่ ร้อยละ 0-40^(2,3) ประเทศไทยพบอัตราการเป็นมะเร็งท่อน้ำดีพบมากเป็นอันดับหนึ่งของโลก โดยพบมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ⁽¹⁾ การรักษามะเร็งท่อน้ำดีในผู้ป่วยที่ไม่สามารถผ่าตัดได้นั้น ส่วนใหญ่จะให้ยาเคมีบำบัด⁽⁴⁾ อย่างไรก็ตาม อัตราการดื้อยาเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง มะเร็งท่อน้ำดีมีความสัมพันธ์กับการอักเสบเรื้อรังที่เกิดขึ้นภายในท่อน้ำดี ซึ่งไซโตไคน์ที่มีความสัมพันธ์กับมะเร็งท่อน้ำดี คือ TNF-alpha ที่มีบทบาททั้งในการทำให้เกิดอะพอพโทซิสของเซลล์มะเร็งและการส่งเสริมเซลล์มะเร็งในการเพิ่มจำนวนและการบุกรุก⁽⁵⁾ อะพอพโทซิสเป็นจุดหมายหลักในการทำลายเซลล์มะเร็ง แต่ จากงานวิจัยที่ผ่านมา⁽⁶⁾ พบว่า TNF-alpha ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดอะพอพโทซิสได้ในมะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKKU-100 และ KKKU-M213 ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งที่มีการแสดงออกของทั้ง TNFR1 และ TNFR2 งานวิจัยในครั้งนี้ จึงต้องการศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องกับการต่อต้านการเกิดอะพอพโทซิสในมะเร็งท่อน้ำดี

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษากลไกการต่อต้านการฆ่าเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKKU-100⁽⁷⁾ เมื่อกระตุ้นด้วย TNF-alpha

วิธีดำเนินการวิจัย

การทดสอบฤทธิ์ของ TNF-alpha ต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKKU-100 โดยวิธี MTT assay เลี้ยงเซลล์มะเร็ง จำนวน 5.0×10^3 cells/100 μ L ทดสอบกับ TNF-alpha ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 20, 40 และ 80 ng/mL เป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบเวลาจึงเปลี่ยนเป็นสารละลาย 0.5 mg/mL MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 540 nm

การทดสอบผลของ TNF-alpha ต่อขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT โดยวิธี Western blot เลี้ยงเซลล์ KKKU-100 10^5 cells/plate ทดสอบในภาวะที่มี TNF-alpha 0, 20, 40, 80 และ 160 ng/mL เป็นเวลา 15 นาที ทำการทดสอบโดยใช้วิธี western blot โดยใช้แอนติบอดีชนิดต่าง ๆ ดังนี้ phospho-MAPK primary antibody, phospho-AKT antibody, Total MAPK antibody และ Total AKT antibody



การทดสอบผลของการยับยั้งขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT เมื่อกระตุ้นด้วย TNF-alpha โดยวิธี Western blot เลี้ยงเซลล์ KKU-100 จำนวน 1.0×10^5 cells/plate และทดสอบโดยใช้ 80 ng/mL TNF-alpha เพียงอย่างเดียว และ 80 ng/mL TNF-alpha ร่วมกับ U0126 หรือ LY294002 ที่ความเข้มข้น 160 μ M โดยมี 0.32% dimethylsulfoxide (DMSO) เป็น ภาวะควบคุม เป็นเวลา 15 นาที ทำการทดสอบหาโปรตีนโดย Western blot

การทดสอบการอยู่รอดของเซลล์เมื่อยับยั้งขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT โดยใช้ U0126 และ LY294002 เลี้ยงเซลล์ KKU-100 จำนวน 5.0×10^3 cells/well ทดสอบกับ 80 ng/mL TNF-alpha และ 80 ng/mL TNF-alpha ร่วมกับ U0126 หรือ LY294002 ที่ความเข้มข้น 160 μ M โดยมี 0.32% DMSO เป็น ภาวะควบคุม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติม 0.5mg/mL MTT นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm ด้วยเครื่อง microplate reader

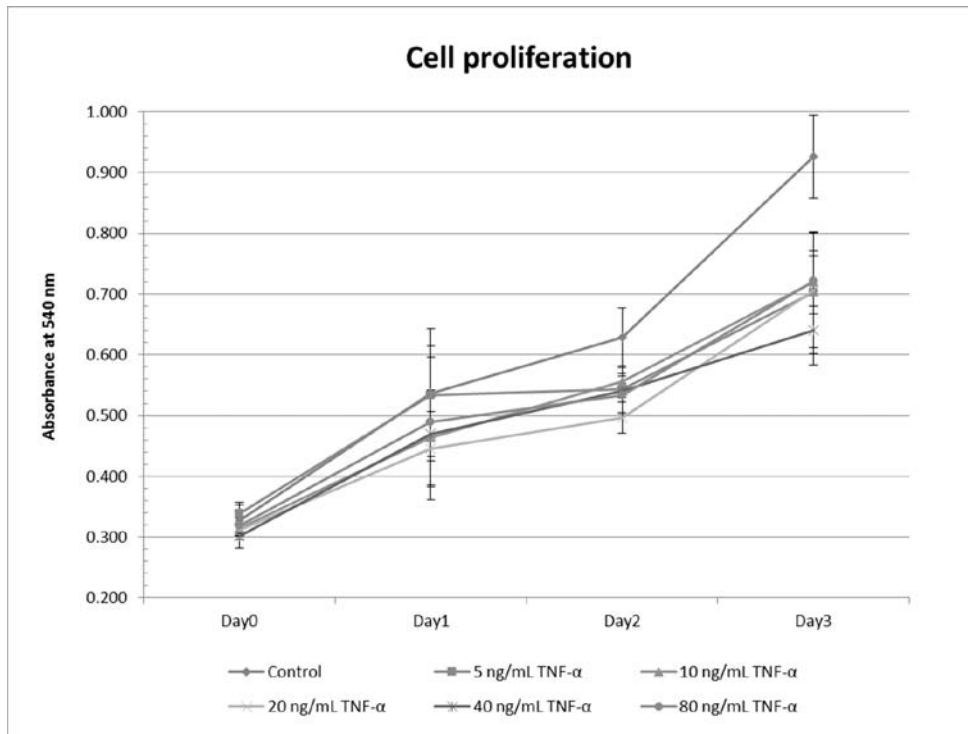
การศึกษากลไกของการเกิดอะพอโทซิสโดยใช้ DAPI assay เลี้ยงเซลล์ KKU-100 จำนวน 2.0×10^5 cells บนกระจกปิดสไลด์ที่ปราศจากเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดสอบด้วย 80 ng/mL TNF-alpha เพียงอย่างเดียว และ 80 ng/mL TNF-alpha ร่วมกับ U0126 หรือ LY294002 ที่ความเข้มข้น 160 μ M โดยมี 0.32% DMSO เป็นภาวะควบคุม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ย้อมด้วยสี DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) (50 mg/mL in PBS) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ดูผลภายใต้กล้องฟลูออเรสเซนส์

สถิติที่ใช้ในการวิจัย

one-way ANOVA ($p < 0.05$), SPSS v.17

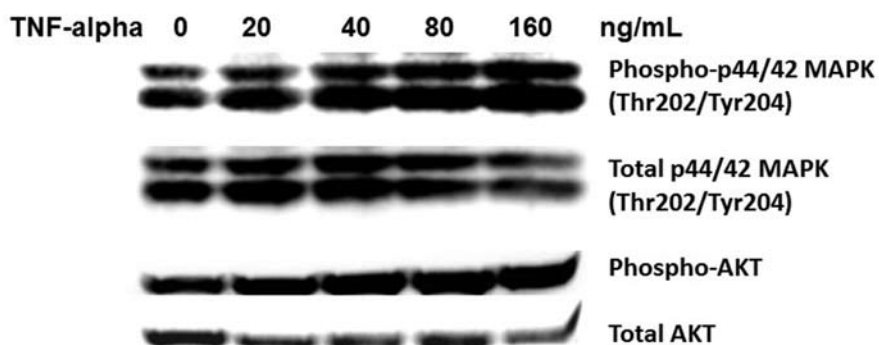
ผลการวิจัย

ผลการศึกษาบทบาทของ TNF-alpha ต่อการเจริญเติบโตในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-100 โดยใช้ MTT assay ผลการทดสอบการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดี จากการกระตุ้นด้วย TNF-alpha ไม่เพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเมื่อเทียบกับภาวะของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีที่ไม่มี TNF-alpha (control) ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 1



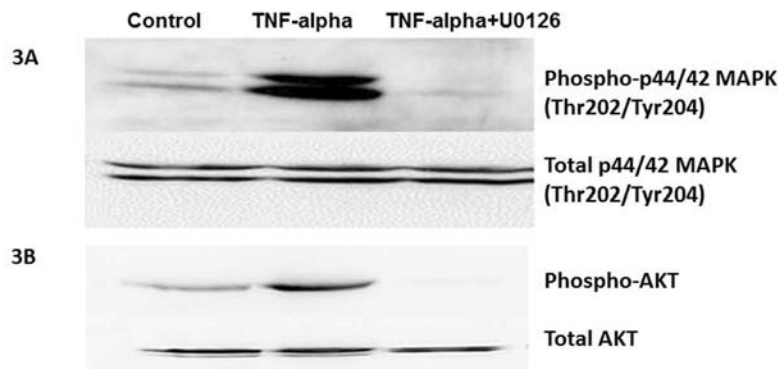
รูปที่ 1 การเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งชนิด KLU-100 ในภาวะที่มี TNF-alpha

ผลการศึกษาบทบาทของ TNF-alpha ต่อการกระตุ้นขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KLU-100 ผลการทดสอบ พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ TNF-alpha จะพบ phosphorylation form ของ MAPK และ AKT เพิ่มขึ้น การทดสอบนี้ใช้ Total MAPK และ Total AKT ในการควบคุมปริมาณโปรตีนในแต่ละความเข้มข้น ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 การกระตุ้นขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT โดย TNF-alpha

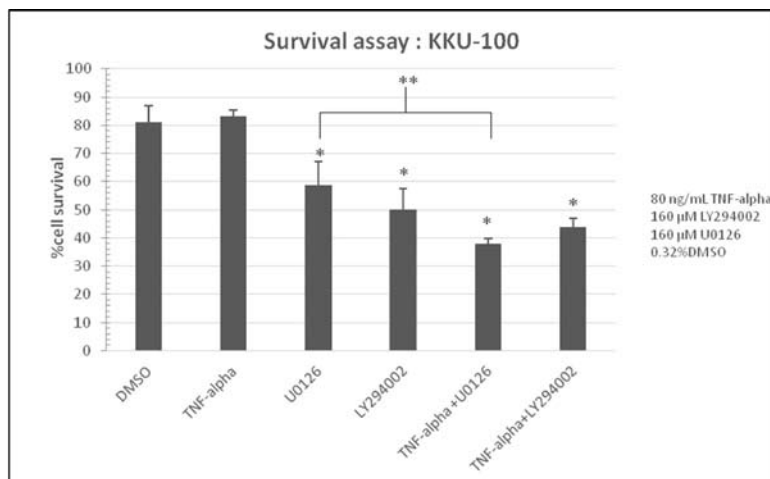
การยับยั้งขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-100 ผลการทดสอบ พบว่า U0126 และ LY294002 สามารถยับยั้งการเกิด phosphorylation ของ MAPK และ AKT ได้โดย phosphorylation form ของ MAPK และ AKT ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเปรียบเทียบกับภาวะที่กระตุ้นด้วย TNF-alpha เพียงอย่างเดียว ดังรูปที่ 3A และ 3B



รูปที่ 3 การยับยั้ง phosphorylation form ของ MAPK (3A) และ AKT (3B)

ผลการศึกษาการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-100 เมื่อการยับยั้งขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT ผลการทดสอบ พบว่า ในภาวะที่มี TNF-alpha เพียงอย่างเดียวการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งไม่มีความแตกต่างจากภาวะควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ TNF-alpha ร่วมกับ LY294002 หรือ TNF-alpha ร่วมกับ U0126 หรือภาวะที่มีเพียง LY294002 และ U0126 จะพบการอยู่รอดของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ภาวะที่มี U0126 ร่วมกับ TNF-alpha มีการอยู่รอดของเซลล์ลดลงมากกว่าภาวะที่มีเพียง U0126 เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

รูปที่ 4

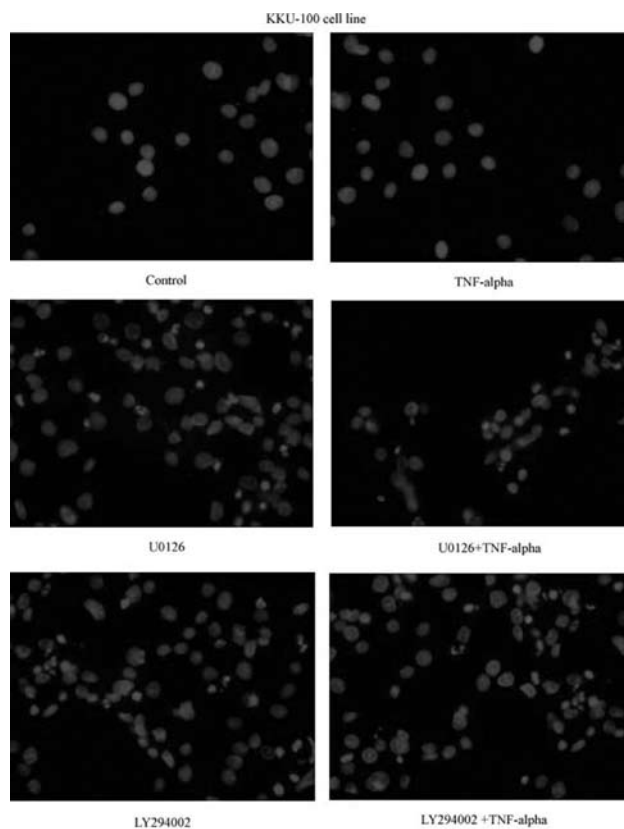


รูปที่ 4 การอยู่รอดของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-100 เมื่อยับยั้งขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับ ภาวะที่มีเฉพาะ TNF-alpha

** มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับภาวะที่มีเฉพาะ

ผลการศึกษาอะพอพโทซิสในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-100 เมื่อยับยั้งขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT ผลการทดสอบ พบว่า TNF-alpha เพียงอย่างเดียว ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดอะพอพโทซิสได้เมื่อเทียบกับภาวะควบคุม แต่เมื่อมีการยับยั้งขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT พบว่า เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-100 เกิดอะพอพโทซิสมากขึ้นเมื่อเทียบกับภาวะควบคุม ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 การเกิดอะพอพโทซิสของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-100

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

ในปี ค.ศ. 2006 พบว่า TNF-alpha สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของยา doxorubicin (DOX) ในการทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมเฉพาะเลี้ยงของมนุษย์ชนิด MCF-7/Adr และ MCF-7 ได้ โดยปกติ MCF-7/Adr และ MCF-7 จะดื้อต่อการรักษาด้วยยา doxorubicin แต่เมื่อใช้ TNF-alpha ร่วมกับการรักษาด้วยยา doxorubicin ส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งมากขึ้น โดยพบว่าการตายของเซลล์มะเร็งนี้เกิดจากการลดระดับ mRNA ของ anti-apoptosis protein⁽⁸⁾ นอกจากนี้ TNF-alpha ยังสามารถกระตุ้นให้เกิด



อะพอพโทซิสได้ในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด HuCCA-1 และ HuCCA-1 Nu เมื่อใช้ TNF-alpha ร่วมกับ actinomycin D⁽⁹⁾ ในทางตรงข้าม TNF-alpha สามารถกระตุ้นการบุกรุกเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด CCKS1 ได้โดยผ่านทาง TNFR2 โดยการกระตุ้น MAPK, AKT, NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) และการหลั่งของ MMP (matrix metalloproteinase)⁽⁵⁾ การวิจัยในครั้งนี้ พบว่า TNF-alpha ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาในเซลล์ไฟโบรบลาสต์หัวใจ (cardiac fibroblast) พบว่า TNF-alpha สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตได้เช่นเดียวกัน⁽¹⁰⁾ ซึ่งการกระตุ้นการเจริญเติบโตในไฟโบรบลาสต์หัวใจ พบว่าเกิดจากการกระตุ้น WNT1-inducible signaling pathway protein-1 (WISP1) ซึ่งเป็นกลุ่มโปรตีนของโกรทแฟกเตอร์ CYR61/CTGF/Nov family ซึ่งผลการทดลองต่างกับเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีในครั้งนี้ อาจเนื่องจากในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KCU-100 ไม่ได้มีการแสดงออกของ WISP1 การยับยั้งขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT โดย U0126 และ LY294002 ส่งผลให้การอยู่รอดของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KCU-100 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับ TNF-alpha เพียงอย่างเดียว (รูปที่ 4) ซึ่งผลสอดคล้องกับการศึกษาในมะเร็งเซลล์เมลานोไซต์ (melanocyte) ในมนุษย์ ของ Wang et al⁽¹¹⁾ การยับยั้งขบวนการส่งสัญญาณของ MAPK และ AKT ในภาวะที่ไม่ได้กระตุ้นด้วย TNF-alpha พบว่า สามารถลดการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งได้เช่นกัน เนื่องจากภาวะปกติในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีมีการกระตุ้น MAPK และ AKT signaling pathway เป็นฐานเดิมอยู่แล้ว จะเห็นได้ว่าการยับยั้ง MAPK และ AKT ต่ำกว่าภาวะควบคุม (รูปที่ 3A และ 3B) จึงเห็นการลดลงของการอยู่รอดของเซลล์และอะพอพโทซิส แม้ในภาวะที่ไม่มี TNF-alpha (รูปที่ 4 และ 5) ซึ่งสอดคล้องกับผลของการวิจัยของ Leelawat et al⁽¹²⁾ ที่พบว่า เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด KCU-100 และ RMCCA-1 ตื้อต่อการใช้ยา oxaliplatin แต่เมื่อยับยั้ง AKT signaling โดยใช้ LY294002 ร่วมกับการใช้ยา oxaliplatin พบว่า สามารถเพิ่มความเป็นพิษต่อเซลล์ และเพิ่มการเกิดอะพอพโทซิสในเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีทั้งสองชนิดนี้ได้ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า AKT และ MAPK signaling เป็นปัจจัยสำคัญในการที่ทำให้เซลล์มะเร็งตื้อต่อการฆ่าด้วย TNF-alpha

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.บรรจบ ศรีภา ที่อนุเคราะห์เซลล์มะเร็งท่อน้ำดีของคนไทยชนิด KCU-100 ในการวิจัยครั้งนี้ และงานวิจัยในครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ



เอกสารอ้างอิง

1. Sripa Banchob, Pairojkul Chawalit. Cholangiocarcinoma: lessons from Thailand. Curr Opin Gastroen. 2008;24(3):349-56.
2. Gregory J Gores. A spotlight on cholangiocarcinoma. Gastroenterology. 2003;125(5):1536-8.
3. Christopher D. Anderson, C. Wright Pinson, Jordan Berlin, Ravi S. Chari. Diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma. Oncologist. 2004;9(1):43-57.
4. Ming-Hsien Lin, Jen-Shi Chen, Helen H.-W. Chen, Wu-Chou Su. A phase II trial of gemcitabine in the treatment of advanced bile duct and periampullary carcinomas. Chemotherapy. 2003;49(3):154-8.
5. Tanimura, Yoko, Kokuryo Toshio, Tsunoda Nobuyuki, Yamazaki Yukiko, Oda Koji, Nimura Yuji, Mon Naing Naing, Huang Pengyu, Nakanuma Yasuni, Chen Min-Fu, Jan Yi-Yin, Yeh Ta-Sen, Chiu Cheng-Taung. Tumor necrosis factor α promotes invasiveness of cholangiocarcinoma cells via its receptors, TNFR2. Cancer Lett. 2005;219:205-13.
6. ปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ, ฤทัยวรรณ โต๊ะทอง. Differential effects of TNF- α on the viability of cholangiocarcinoma cell lines. วารสาร มจก. วิชาการ. 2558;19(37):25-38.
7. Sripa Banchob, Leungwattanawanit Saman, Nitta Takayuki, Wongkham Chaisiri, Bhudhisawasdi Vajarabhongsa, Puapairoj Anucha, Sripa Chongrak, Miwa Masanao. Establishment and characterization of an opisthorchiasis-associated cholangiocarcinoma cell line (KKU-100). World J Gastroenterol. 2005;11(22):3392-7.
8. Wei Cao, Sheng Lin Ma, Juanjuan Tang, Jingquan Shi, Yanjun Lu. A combined treatment TNF- α /doxorubicin alleviates the resistance of MCF-7/Adr cells to cytotoxic treatment. Biochim Biophys Acta. 2006;1763:182-7.



9. Utaisincharoen P., Ubol, S., Tangthawornchaikul, N., Chaisuriya, P., Sirisinha, S. Binding of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) to TNF-RI induces caspase(s)-dependent apoptosis in human cholangiocarcinoma cell lines. Clin Exp Immunol. 1999;116(1): 41-7.
10. Venkatachalam Kaliyamurthi, Venkatesan Balachanda, Valente J Anthony, Melby C Peter, Nandish Sailesh, Reusch E.B. Jane, Clark A Robert, Chandrasekar Bysani. WISP1, A pro-mitogenic, pro-survival factor, mediated TNF-alpha stimulated cardiac fibroblast proliferation, but inhibits TNF-alpha induced cardiomyocyte death. J Biol Chem. 2009;22:284(21):14414-27.
11. Yu Fang Wang, Chen Chen Jiang, Kelly Anne Kiejda, Susan Gillespie, Xu Dong Zhang. Peter Hersey. Apoptosis Induction in Human Melanoma Cells by Inhibition of MEK Is Caspase-Independent and Mediated by the Bcl-2 Family Members PUMA, Bim, and Mcl-1. Clin Cancer Res. 2007;13:4934-42.
12. Leelawat Kawin, Narong Siriluck, Udomchaiprasertkul Wandee, Leelawat Surang, Tungpradubkul Sumalee. Inhibition of PI3K increases oxaliplatin sensitivity in cholangiocarcinoma cells. Cancer Cell Int. 2009;9(3):1-8.