

HOẠT CHẤT TAK-901 HẠN CHẾ SỰ PHÁT TRIỂN VÀ DI TRÚ CỦA TẾ BÀO UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG

Nguyễn Anh Vũ¹
Bùi Khắc Cường², Nguyễn Thị Mai Ly^{1*}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá tác dụng ức chế tăng sinh và di trú tế bào của TAK-901, chất ức chế đặc hiệu Aurora kinase A/B trên dòng tế bào ung thư đại trực tràng HCT-116.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu thực nghiệm *in vitro*, với các thử nghiệm đáp ứng liều và thử nghiệm di trú tế bào; trong đó, sử dụng chất ức chế Aurora kinase A/B, TAK-901 và dòng tế bào ung thư đại trực tràng HCT-116.

Kết quả: TAK-901 có tác dụng hạn chế sự phát triển và sự di trú của tế bào ung thư đại trực tràng HCT-116 ở hai nồng độ 0,125 μM và 0,25 μM . Ngoài ra, hình thái tế bào thay đổi khi tiếp xúc với chất ức chế, xuất hiện các tế bào với kích thước bất thường.

Kết luận: TAK-901, chất ức chế đặc hiệu AURKA/B gây biến đổi hình thái, hạn chế sự phát triển và di trú của tế bào HCT-116.

Từ khóa: Chất ức chế Aurora kinase A/B, TAK-901, ung thư đại trực tràng.

TAK-901 COMPOUND INHIBITS CELL GROWTH AND MIGRATION OF COLORECTAL CANCER ABSTRACT

Objectives: This study aimed to evaluate the effect of TAK-901, an Aurora kinase A/B specific inhibitor, on the HCT-116 colorectal cancer cell line *in vitro*.

Subjects and methods: This study used TAK-901, an inhibitor of Aurora kinase A/B, and the HCT-116 colorectal cancer cell line. The experiments conducted including dose-response assay and cell migration assay.

Results: The results demonstrated that TAK-901 significantly inhibited the growth and migration ability of HCT-116 cells at two concentrations 0.125 μM and 0.25 μM . In addition, cell morphology changed upon exposed to the inhibitor, with the appearance of cells with abnormal sizes.

Conclusions: TAK-901, a specific AURKA/B inhibitor, notably impacted the morphology, growth and migration ability of HCT-116.

Keywords: Aurora kinase A/B inhibitor, TAK-901, colorectal cancer.

Chịu trách nhiệm nội dung: Nguyễn Thị Mai Ly, Email: dr.nguyenmaily@gmail.com

Ngày nhận bài: 17/12/2024; mời phản biện khoa học: 01/2025; chấp nhận đăng: 25/02/2026.

¹Học viện Quân y.

²Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư đại trực tràng (ĐTT) hiện đang là một "gánh nặng" sức khỏe đối với cộng đồng. Theo dữ liệu tổng hợp năm 2022 của Globocan, ung thư ĐTT là bệnh ung thư xếp thứ ba về độ phổ biến và thứ hai về tỉ lệ tử vong trên thế giới [1]. Năm 2022, Việt Nam báo cáo hơn 16.800 ca ung thư ĐTT mắc mới [2]. Bên cạnh những phương pháp điều trị đã được tiến hành từ lâu như phẫu thuật, hóa trị, xạ trị..., liệu pháp điều trị đích là một phương pháp tiềm năng đã và đang được nghiên cứu thử

nghiệm. Tiên lượng dè dặt và xếp hạng phổ biến đòi hỏi phải tìm ra phương pháp điều trị mới, phù hợp, nhằm cải thiện tiên lượng cho người bệnh.

Aurora kinase (AURK) đã được chứng minh là cần thiết cho sự tăng sinh tế bào, giúp tế bào đang phân chia có thể phân phối vật liệu di truyền cho các tế bào con. Tuy nhiên, sự biểu hiện quá mức các protein kinase này đã được ghi nhận ở nhiều bệnh ung thư. Có 3 loại AURK, bao gồm AURKA (định vị trung thể và cực của trục tế bào, cần thiết cho sự lắp ráp thoi phân bào và sự phát triển trung

thể), AURKB (gắn thoi phân bào vào tâm động, bất hoạt kinase này dẫn đến bất thường về nhiễm sắc thể (NST), gián đoạn chức năng kiểm tra và khiến tế bào thoát khỏi chu kì tế bào thông thường) [3], AURKC (hoạt động trong các tế bào mầm.. Sự biểu hiện quá mức AURKA đã được chứng minh liên quan tới quá trình hình thành khối u, sự sống sót của tế bào ung thư và sự di trú hay di căn của tế bào ung thư trong cơ thể thông qua nhiều cơ chế (điển hình như: chuyển dạng EMT, RAS hay E-cadherin và β -catenin... [4, 5]. Tương tự, tăng mạnh protein AURKB làm giảm biểu hiện của chất ức chế chu kì tế bào p21 thông qua ức chế p53 và dẫn đến hoạt động bất thường của Cdk1. Từ đó, càng đẩy mạnh hoạt động của AURKB thông qua việc kích hoạt TIP60 [6]. Đặc biệt, cả hai kinase đều có khả năng ức chế protein p53 - con đường tín hiệu ức chế khối u quan trọng của con người - nhờ khả năng phosphoryl hóa p53 tại các vị trí Ser315 và Ser10 [6, 7]. Con đường tín hiệu p53 quyết định thời gian sống và tăng sinh của tế bào; đồng thời, thông qua việc dừng chu kì tế bào để sửa chữa DNA bị tổn thương hay thúc đẩy quá trình chết tế bào theo chương trình nếu tổn thương không thể sửa chữa để bảo tồn sự toàn vẹn của bộ gen tế bào [8]. Bên cạnh đó, AURK cũng có khả năng phosphoryl hóa protein histone H3 - thành phần cấu tạo của nucleosome. Do đó, biểu hiện bất thường của các kinase này có thể dẫn tới bất thường về NST [3]. Như vậy, tác động vào Aurora kinase có thể ảnh hưởng đến sự phát triển của khối u. Từ đó, có thể nhắm đến như một mục tiêu trong liệu pháp điều trị đích trong điều trị ung thư.

Nghiên cứu này thực hiện nhằm đánh giá tác dụng hạn chế sự phát triển và sự di trú của tế bào ung thư ĐTT của TAK-901 - một chất ức chế cạnh tranh ATP có ái lực cao với Aurora kinase; từ đó, ngăn cản sự phosphoryl hóa của Aurora kinase đối với protein histone H3 - cơ chất chủ yếu của Aurora kinase.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Chất ức chế đặc hiệu Aurora kinase A/B: TAK-901 ($C_{28}H_{32}N_4O_3S$ 10 mM, Selleckchem) là một phân tử nhỏ, ức chế đặc hiệu Aurora kinase, với IC_{50} đối với AURKA và AURKB lần lượt là 21 nM và 15 nM. Hoạt chất được hoàn nguyên và bảo quản theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Quá trình sử dụng hạn chế việc rã đông và tái đông hoạt chất.

- Dòng tế bào ung thư ĐTT HCT-116 (mã CCL-247), cung cấp bởi Công ty ATCC, Hoa Kỳ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Nuôi cấy và tăng sinh tế bào*: tế bào HCT-116 được nuôi cấy trong môi trường RPMI 1640 có bổ sung 1% penicillin+streptomycin và 10% FBS. Tế bào được duy trì trong tủ nuôi cấy với 5% CO_2 , nhiệt độ 37°C. Để chuẩn bị cho các thử nghiệm đánh giá, tế bào được gieo nuôi tối thiểu hai thế hệ, gieo cấy ít nhất từ 48 giờ trước, bảo đảm mật độ tế bào khoảng 50-80%, tỉ lệ tế bào sống trên 95%.

- *Thử nghiệm đáp ứng liều bằng WST-1*: gieo nuôi 1000 tế bào trong 200 μ L dung dịch nuôi cấy chuẩn trong mỗi giếng trên đĩa 96 giếng. Sau 48 giờ, dịch nuôi được bổ sung với TAK-901 ở các nồng độ 0 μ M, 0,125 μ M, 0,25 μ M và 0,5 μ M; trong thời gian 72 giờ, ở điều kiện nuôi cấy chuẩn. Sau đó, phân tích sự sống tế bào trong các giếng bằng nhuộm WST. Cụ thể: thay môi trường cũ bằng 10% WST-1 trong môi trường nuôi cấy chuẩn mới và ủ 2 giờ trong tủ nuôi cấy. Tiếp theo, đo mật độ quang của các giếng trên máy đọc đĩa 96 giếng. Thông qua so sánh mật độ quang giữa các nhóm xử lí với TAK-901 với nhóm chứng (nhóm liều 0 μ M) và xác định nồng độ IC_{50} - là nồng độ ức chế sự sống tế bào 50% so với nhóm chứng.

- *Nhận định biến đổi hình thái tế bào trên kính hiển vi*: sau nuôi cấy trong môi trường có bằng TAK-901 72 giờ, kiểm tra, đánh giá hình thái tế bào và chụp ảnh dưới kính hiển vi trước khi ủ với thuốc nhuộm WST.

- *Khảo sát sự ảnh hưởng của chất ức chế Aurora kinase A/B trên mức độ di trú tế bào HCT-116*: thử nghiệm bắt chước sự di chuyển trực tiếp của các tế bào trên bề mặt hai chiều (2D). Thí nghiệm bắt đầu bằng cách gieo 150.000 tế bào/giếng trên đĩa 12 giếng trong môi trường nuôi cấy có bổ sung 10% FBS và duy trì cho đến khi mật độ tế bào đạt 80%. Tiếp theo, các tế bào được xử lí với TAK-901 ở các nồng độ 0 μ M, 0,125 μ M, 0,250 μ M trong 24 giờ. Sau đó, vạch từng giếng bằng đầu pipet 200 μ l và rửa nhẹ bằng PBS đã được làm ấm trước để loại trừ các tế bào nổi. Duy trì môi trường các tế bào n trong vòng 36 giờ tiếp theo. Nhiều ảnh dọc theo đường vạch được chụp ảnh tại các thời điểm 0 giờ, 18 giờ và 36 giờ sau vạch. Sau đó, thiết diện khu vực vết thương (wound area) được đo trên phần mềm Image J. Tính chỉ số di cư của các tế bào theo công thức:

$$X = \frac{S_0 - S_i}{S_0} (\%)$$

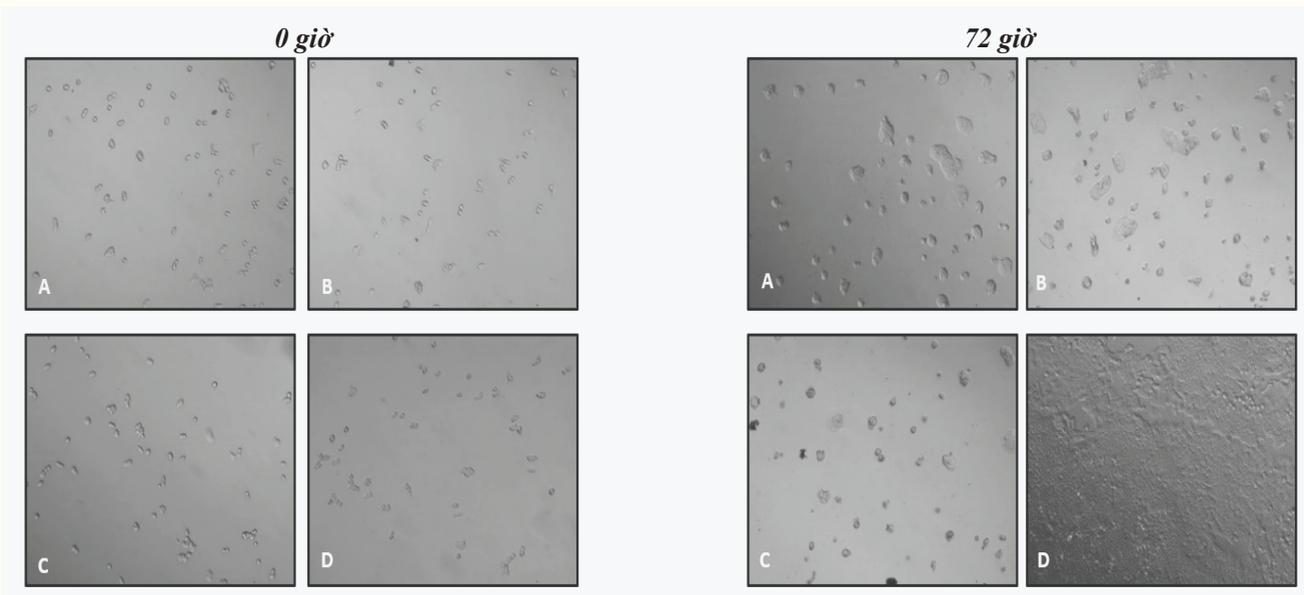
Trong đó, S_i là diện tích trung bình vết rạch ở giờ thứ i; S_0 là diện tích trung bình vết rạch ở thời điểm 0 giờ. Chỉ số được tính tương ứng với từng mốc thời gian 18 giờ và 36 giờ.

- Phương pháp phân tích thống kê: thể hiện dữ liệu dưới dạng giá trị trung bình \pm độ lệch chuẩn. Mỗi thí nghiệm được lặp lại ít nhất 3 lần. Sự khác biệt giữa ≥ 3 nhóm được phân tích tương ứng bằng ANOVA 1 chiều hoặc 2 chiều và kiểm định Tukey từng cặp trong nhóm nghiên cứu. Sự khác biệt có

ý nghĩa thống kê nếu $p < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Chất ức chế đặc hiệu Aurora kinase A/B kìm hãm sự phát triển và biến đổi hình thái tế bào HCT-116



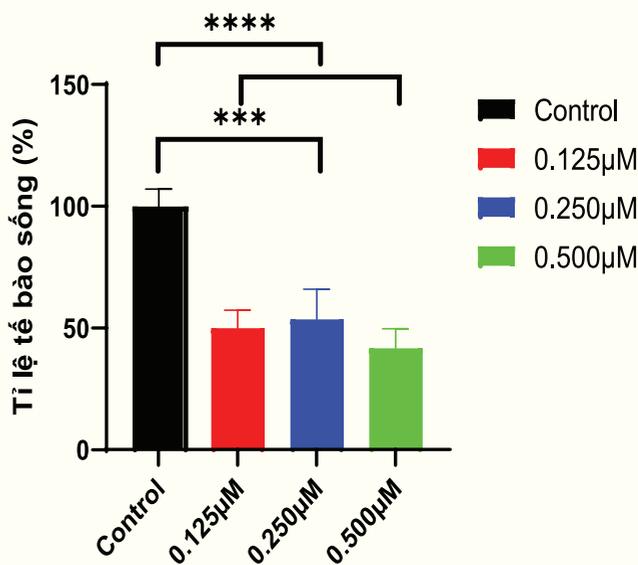
Hình 1. Kết quả thử nghiệm đáp ứng liều WST với các nồng độ khác nhau. Nồng độ Chất ức chế đặc hiệu Aurora kinase A/B - TAK-901 (A: 0,5 μM; B: 0,25 μM; C: 0,125 μM; D: nhóm chứng).

Thử nghiệm đáp ứng liều WST-1 đánh giá sự ức chế sự sống tế bào của TAK-901. Kết quả cho thấy TAK-901 có khả năng ức chế sự sống của tế bào HCT-116 *in vitro*.

Hình ảnh chụp tế bào dưới kính hiển vi cho thấy, tại thời điểm bắt đầu thí nghiệm (0 giờ), mật độ tế bào giữa các giếng tương đối đồng đều. Sau tác động bởi với TAK-901 72 giờ, sự sống tế bào ở các nhóm điều trị giảm rõ rệt (A-C phải 72 giờ), so với nhóm chứng (D phải 72 giờ). Trong khi tế bào ở nhóm chứng (D) vẫn tăng sinh mạnh, các tế bào ở các giếng tác động bởi với TAK-901 dường như không tăng sinh. Đáng chú ý, hình thái tế bào thay đổi khi tiếp xúc với TAK-901, xuất hiện các tế bào với kích thước bất thường, không còn hình thái giống với tế bào ở nhóm không tiếp xúc. Bên cạnh đó, quan sát thấy một số tế bào chết, thành tế bào bị phá vỡ.

So sánh mật độ quang giữa các giếng của các nhóm nghiên cứu, thấy tại thời điểm 72 giờ sau tác động, nồng độ 0,125 μM của thuốc gây chết một nửa quần thể tế bào. Tỷ lệ tế bào sống ở các nhóm điều trị với TAK-901 thấp hơn so với nhóm chứng ($p < 0,001$). Tuy nhiên, chưa thấy rõ được sự khác biệt về tỷ lệ sống của tế bào ở các nhóm tiếp xúc chất ức chế ở các nồng độ pha loãng khác nhau.

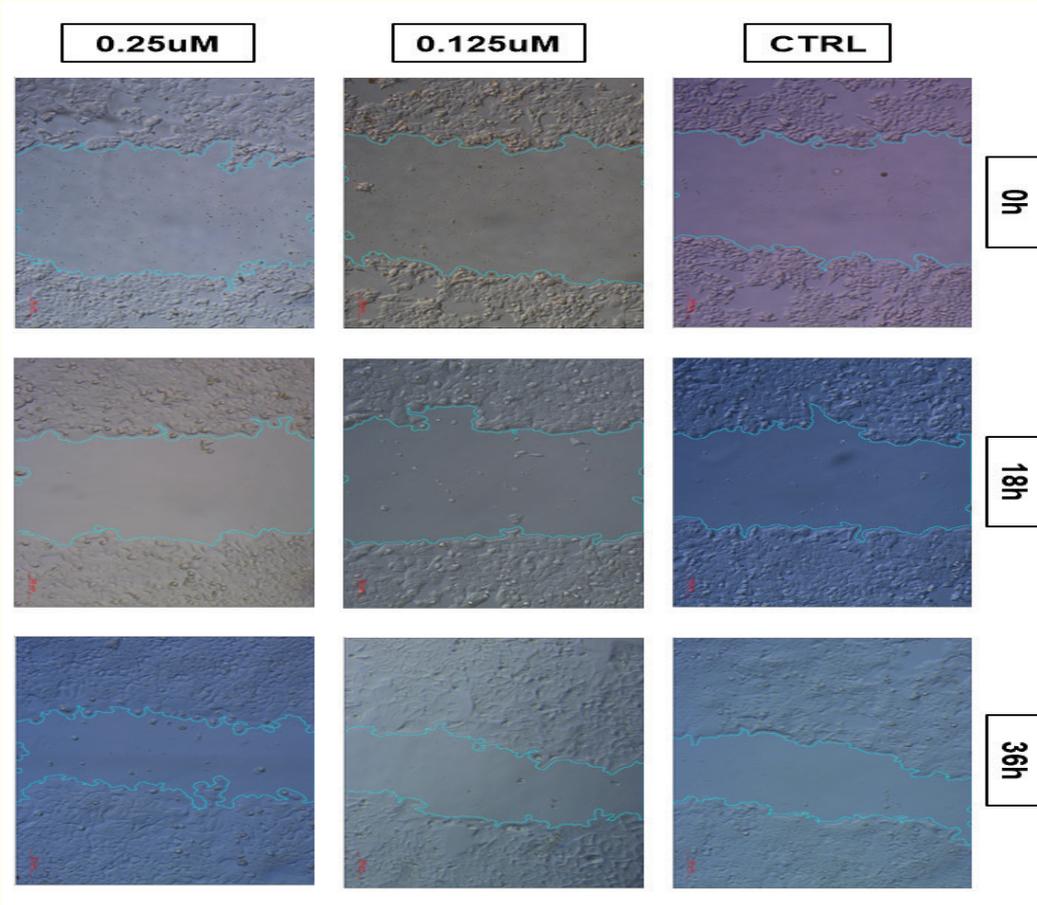
HCT116_TAK-901_WST-1



Hình 2. Kết quả thử nghiệm đáp ứng liều bằng WST-1.

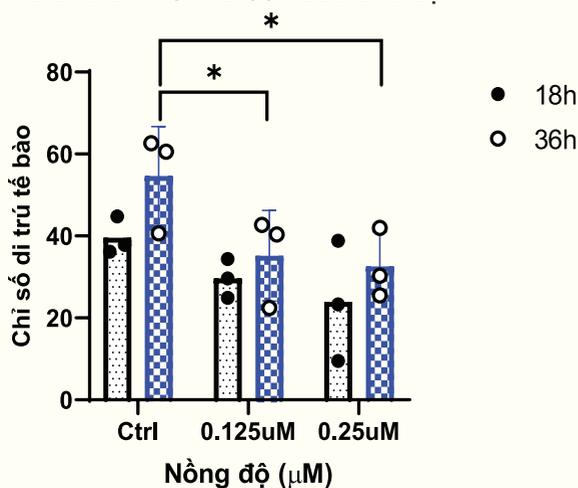
Sau khi tiến hành thử nghiệm, sử dụng hai nồng độ (0,125 μM và 0,25 μM) TAK-901 trong các thử nghiệm tiếp theo. Như vậy, TAK-901 ức chế sự sống tế bào HCT-116 không phụ thuộc liều.

3.2. Tác động bằng chất ức chế đặc hiệu Aurora kinase A/B hạn chế quá trình di trú của tế bào ung thư ĐTT HCT-116



Hình 3. Kết quả thử nghiệm di trú tế bào tại các thời điểm 0 giờ, 18 giờ, 36 giờ.

Thử nghiệm di trú tế bào được sử dụng để đánh giá khả năng di trú của tế bào HCT-116 *in vitro* trên bề mặt phẳng sau khi điều trị với TAK-901 các nồng độ 0,125 μ M và 0,25 μ M và quan sát, chụp ảnh vào các thời điểm 18h và 36h sau điều trị.



Hình 4. Chỉ số di trú tế bào của tế bào HCT-116 tác động bởi TAK-901 ở các nồng độ (* $p < 0,05$).

Ở thời điểm 18 giờ, chỉ số di trú có xu hướng giảm dần, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Phân tích sau 36 giờ cho thấy, điều trị bằng TAK-901 nồng độ 0,125 μ M và 0,25 μ M gây giảm chỉ số di trú tế bào so với nhóm chứng, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Có sự khác biệt chỉ số di trú tế bào ở thời điểm 36 giờ sau tác động giữa các nhóm tế bào. Chỉ số di trú không phụ thuộc liều tác động. Như vậy, TAK-901 nồng độ 0,125 μ M và 0,25 μ M đã ức chế di trú của tế bào ung thư ĐTT HCT-116, tác dụng ức chế này phụ thuộc thời gian và không phụ thuộc liều.

4. BÀN LUẬN

Ung thư ĐTT là gánh nặng y tế toàn cầu. Vai trò của Aurora kinase trong bệnh sinh ung thư, trong đó có ung thư ĐTT đã được báo cáo. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng TAK-901 ngăn cản Aurora kinase phosphoryl hóa protein histone H3 - cơ chất trực tiếp của Aurora B kinase. Từ đó, khiến các tế bào ung thư tiến vào con đường tạo thể đa bội (> 4N), sau đó kích hoạt p53 và chết

theo chương trình [9, 10]. Khi Aurora B kinase bị ức chế, các tế bào tiếp tục chu kì tế bào mà không có quá trình phân bào, không có bất kì điểm kiểm tra chu kì tế bào nào được kích hoạt, dẫn đến đa bội hóa [10]. p53 là một protein ức chế phát sinh khối u bằng cách gây gián đoạn và làm ngừng chu kì tế bào, thông qua các protein trung gian khác trên con đường p53 như các phức hệ *CDK-cyclin*, *p21*, *BAX*, *PUMA*, *Bcl2*, *Bcl-xL*, *p48*... Cho đến khi DNA bị hư hỏng được sửa chữa hoặc khiến cho tế bào chết theo chương trình nếu DNA không còn khả năng tự sửa chữa [9, 11].

Thử nghiệm đáp ứng liều cho thấy, chất ức chế đặc hiệu AURKA/B TAK-901 ở nồng độ 0,125 μM ức chế tế bào tăng sinh khoảng 50%. Do đó, các nồng độ TAK-901 0,125 μM và 0,25 μM được chúng tôi lựa chọn sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo. Ngoài ra, khi quan sát hình thái tế bào tại các thời điểm 0 giờ và 48 giờ sau khi tiếp xúc với chất ức chế, dễ dàng nhận thấy tế bào phát triển kích thước bất thường, không còn hình thái giống với tế bào ở nhóm không tiếp xúc. Bên cạnh đó, chúng tôi còn quan sát thấy một số tế bào chết, thành tế bào bị phá vỡ. Những kết quả quan sát này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, tế bào bị đa bội hóa có kích thước tăng lớn gấp nhiều lần so với bình thường; đồng thời, sự ức chế Aurora kinase và kích hoạt p53 cũng dẫn tới apoptosis ở một số tế bào. Tại thời điểm 36 giờ sau tiếp xúc với chất ức chế, chỉ số di trú tế bào của HCT116 có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm chứng và 2 nhóm thí nghiệm, cho thấy chất ức chế đặc hiệu AURKA/B TAK-901 có tác dụng ức chế tế bào di trú.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã cho thấy chất ức chế đặc hiệu AURKA/B, TAK-901 hạn chế sự phát triển của dòng tế bào ung thư đại trực tràng HCT-116 ở nồng độ 0,125 μM và 0,25 μM . TAK-901 gây bất thường hình thái tế bào ung thư đại trực tràng, phá hủy tế bào và ức chế sự di trú của tế bào HCT-116. Chất ức chế đặc hiệu AURKA/B, TAK-901 có tiềm năng để nghiên cứu chuyên sâu về tác dụng kháng ung thư của hoạt chất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Globocan, *All cancers fact sheet*, 2022.
2. Globocan, *Vietnam cancers fact sheet*, 2022.
3. Crosio C, Fimia GM, Loury R, Kimura M, Okano Y, Zhou H, *et al.*, "Mitotic Phosphorylation of

Histone H3: Spatio-Temporal Regulation by Mammalian Aurora Kinases", *Mol Cell Biol.* 2002; 22: 874-85. <https://doi.org/10.1128/MCB.22.3.874-885.2002>.

4. Liu X, Li Z, Song Y, Wang R, Han L, Wang Q, *et al.*, "AURKA induces EMT by regulating histone modification through Wnt/ β -catenin and PI3K/Akt signaling pathway in gastric cancer", *Oncotarget.* 2016; 7: 33152-64. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8888>.
5. Jacobsen A, Bosch L.J.W, Martens-de Kemp S.R, Carvalho B, Sillars-Hardebol A.H, Dobson R.J, *et al.*, "Aurora kinase A (AURKA) interaction with Wnt and Ras-MAPK signalling pathways in colorectal cancer", *Sci Rep.*, 2018; 8: 7522. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-24982-z>.
6. Guise A.J, Greco T.M, Zhang I.Y, Yu F, Cristea I.M, "Aurora B-dependent Regulation of Class IIa Histone Deacetylases by Mitotic Nuclear Localization Signal Phosphorylation", *Mol Cell Proteomics*, 2012; 11: 1220-9. <https://doi.org/10.1074/mcp.M112.021030>.
7. Katayama H, Sasai K, Kawai H, Yuan Z-M, Bondaruk J, Suzuki F, *et al.*, "Phosphorylation by aurora kinase A induces Mdm2-mediated destabilization and inhibition of p53", *Nat Genet*, 2004; 36: 55-62. <https://doi.org/10.1038/ng1279>.
8. Li X-L, Zhou J, Chen Z-R, Chng W-J, "P53 mutations in colorectal cancer - molecular pathogenesis and pharmacological reactivation", *World J Gastroentero*, 2015; 21: 84-93. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i1.84>.
9. Murai S, Matuszkiewicz J, Okuzono Y, Miya H, De Jong R, "Aurora B Inhibitor TAK-901 Synergizes with BCL-xL Inhibition by Inducing Active BAX in Cancer Cells", *Anticancer Res.*, 2017; 37: 437-44. <https://doi.org/10.21873/anticancer.11335>.
10. Nair J.S, Ho A.L, Schwartz G.K, "The induction of polyploidy or apoptosis by the Aurora A kinase inhibitor MK8745 is p53-dependent", *Cell Cycle Georget Tex*, 2012; 11: 807-17. <https://doi.org/10.4161/cc.11.4.19323>.
11. D'Orazi G, "p53 Function and Dysfunction in Human Health and Diseases", *Biomolecules.* 2023; 13: 506. <https://doi.org/10.3390/biom13030506>.Lời cảm ơn:

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 108.02-2019.324. □