

ẢNH HƯỞNG CỦA GEMCITABINE LÊN XÂM LẤN VÀ BIỂU HIỆN E-CADHERIN CỦA TẾ BÀO UNG THƯ ĐƯỜNG MẬT TRONG GAN

Nguyễn Thị Mai Ly^{1,2,✉}

¹Học viện Quân y

²Bệnh viện Quân y 103

Khảo sát tác động của Gemcitabine lên đặc tính xâm lấn và biểu hiện E-Cadherin của tế bào ung thư đường mật trong gan. Tế bào ung thư đường mật trong gan kháng Gemcitabine (SZ1-G28) được tạo lập và duy trì tại phòng nghiên cứu. Đặc tính xâm lấn được so sánh giữa tế bào kháng và không kháng (SZ1-P) khi có và không có Gemcitabine bằng thí nghiệm xâm lấn. Biểu hiện của E-Cadherin của SZ1-G28 và SZ1-P được đánh giá bằng thử nghiệm western blot. SZ1-G28 tăng xâm lấn so với tế bào không kháng. Gemcitabine 20 µg/mL thúc đẩy sự xâm lấn của tế bào SZ1-P. Hơn nữa, SZ1-G28 giảm biểu hiện của E-Cadherin so với tế bào SZ1-P. Kháng Gemcitabine và điều trị bởi Gemcitabine làm tế bào ác tính và linh hoạt hơn, gây tăng xâm lấn tế bào ung thư đường mật trong gan. Đồng thời, biểu hiện của E-Cadherin giảm ở tế bào SZ1-G28, so với SZ1-P. Kết quả gợi ý rằng kháng và điều trị với Gemcitabine làm tế bào ung thư đường mật trong gan trở nên ác tính hơn trên thực nghiệm, liên quan đến sự giảm biểu hiện của E-Cadherin.

Từ khóa: Ung thư đường mật trong gan, kháng Gemcitabine, xâm lấn, di căn, E-Cadherin.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư đường mật là bệnh gan ác tính phổ biến thứ hai sau ung thư biểu mô tế bào gan nguyên phát. Bệnh có tiên lượng xấu liên quan đến tỷ lệ cao được chẩn đoán ở giai đoạn tiến triển không thể phẫu thuật triệt căn và hiệu quả liệu pháp hóa trị thấp.¹ Tỷ lệ mắc và tử vong liên quan đến ung thư đường mật có xu hướng tăng cao trong những thập niên gần đây.² Dựa trên vị trí khởi phát của tế bào ung thư, ung thư đường mật được chia thành ung thư đường mật trong gan và ung thư đường mật ngoài gan (gồm đoạn xa và quanh rốn gan).³ Ung thư đường mật trong và ngoài gan có đặc điểm sinh học khác biệt như các yếu tố nguy cơ, kiểu gen và kiểu hình, biến thể gen và diễn biến lâm sàng khác nhau.² Xu hướng trái ngược tăng tỷ lệ mắc

ung thư đường mật trong gan và giảm/ổn định tỷ lệ ung thư đường mật ngoài gan ở Hoa Kỳ gợi ý về sự khác biệt trong cơ chế bệnh sinh của hai phân loại này.² Cụ thể, đột biến gen *IDH1*, *ARID1A*, *BAP1*, *TP53*, và dung hợp gen *FGFR2* và *NRAS* thường gặp ở ung thư đường mật trong gan, trong khi ung thư đường mật ngoài gan thường có đột biến *TP53*, *KRAS*, and *BRAF*.^{2,4} Sự khác biệt đặt ra yêu cầu phải phân tích và làm rõ đặc điểm đáp ứng của hai phân nhóm trong diễn biến và đáp ứng điều trị, đặc biệt điều trị cá thể hóa.

Là loại ung thư có tính dị biệt cao, ung thư đường mật gặp rào cản trong áp dụng liệu pháp đích hướng cá thể hóa. Từ năm 2010, kết hợp Gemcitabine-Cisplatin vẫn là liệu pháp hóa trị hàng đầu cho ung thư đường mật tiến triển, nhưng hiệu quả điều trị hạn chế.⁵ Kháng thuốc được cho là liên quan đến thất bại điều trị của hóa trị liệu, trong đó có kháng Gemcitabine. Gemcitabine là thành phần trong liệu pháp hóa trị liệu hàng đầu của nhiều loại ung thư, trong đó có ung thư đường mật. Đã có nhiều nghiên cứu

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Mai Ly

Học viện Quân y

Email: dr.nguyenmaily@gmail.com

Ngày nhận: 03/04/2026

Ngày được chấp nhận: 28/04/2026

cơ chế, nhưng vẫn chưa có giải pháp cho kháng Gemcitabine. Vì vậy, chúng tôi đã tạo lập tế bào kháng Gemcitabine có thể là công cụ hữu ích cho phân tích cơ chế và tìm giải pháp cho vấn đề này. Hơn nữa, một số khác biệt về đặc điểm kiểu gen và biểu hiện của ung thư đường mật trong và ngoài gan, gợi ý rằng cần đánh giá đặc điểm tế bào kháng và đáp ứng với Gemcitabine của tế bào ung thư đường mật trong gan và ngoài gan. Đến nay, chưa có bằng chứng về tác động trực tiếp của Gemcitabine lên khả năng xâm lấn tế bào ung thư đường mật trong gan.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Tế bào SZ1 ban đầu (SZ1-P) được phân lập từ khối ung thư đường mật trong gan của bệnh nhân tại trường đại học Tuebingen, CHLB Đức và được duy trì trong phòng nghiên cứu. Tế bào SZ1 kháng Gemcitabine (SZ1-G28) được tạo lập tại phòng thí nghiệm qua 28 chu kỳ tách nuôi tế bào và ủ với liều tăng dần của Gemcitabine. Nồng độ Gemcitabine ức chế $\frac{1}{2}$ sự sống của tế bào SZ1-P và SZ1-G28 lần lượt là 0,0006 $\mu\text{g}/\text{mL}$ và 82,69 $\mu\text{g}/\text{mL}$, (tăng lên khoảng 135.000 lần). Gemcitabine (GEMZAR) được mua từ công ty Eli Lilly and Company ở dạng bột đông khô trong lọ thủy tinh đóng kín chân không, hàm lượng 200 hoặc 1000mg/lọ. Gemcitabine (GEMZAR) được hoàn nguyên hoàn toàn bằng cách thêm NaCl 0,9%, và được chia vào các eppendorf vô trùng, lưu ở -20°C cho đến khi sử dụng, và hạn chế rã đông-tái đông nhiều lần.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm trên tế bào ung thư đường mật trong gan kháng Gemcitabine SZ1-G28 và tế bào không kháng ban đầu SZ1-P được nuôi cấy song song, và sử dụng cho thí nghiệm xâm lấn và western blot. Kết quả nghiên cứu xác định liều dung nạp của chúng tôi chỉ ra rằng sự sống của tế bào SZ1-G28 tương đương khi nuôi cấy trong điều kiện có và không có Gemcitabine 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Vì vậy, liều dung nạp Gemcitabine 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ được

sử dụng trong thử nghiệm xâm lấn và không gây nhiều qua tác động lên sự sống tế bào.

Địa điểm và thời gian nghiên cứu: Nghiên cứu được thực hiện tại Trung tâm Nghiên cứu động vật thực nghiệm, Học viện Quân y từ năm 2020 - 2021.

Nuôi cấy tế bào: SZ1-P và SZ1-G28 được nuôi trong môi trường RPMI + huyết thanh bào thai bò (FBS 10%) + kháng sinh peniciline + streptomycin (1%) trong tủ nuôi cấy được duy trì ở 37°C , 5% CO_2 .

Thí nghiệm tế bào xâm lấn: Sử dụng đĩa xâm lấn 6 giếng của BD BioCoat™ Matrigel™ (BD Biosciences, Hoa Kỳ). Giếng chèn được hoạt hóa theo tuần tự 30 phút ở nhiệt độ phòng, thêm 2,5 mL RPMI không huyết thanh và giữ trong tủ nuôi cấy trong hai giờ để bù nước. Tiếp theo, bổ sung 2,5 mL môi trường có FBS 10% và giếng đáy để thu hút tế bào xâm lấn qua màng nền. Ở đĩa chèn trên, gieo 10^6 tế bào lơ lửng trong môi trường không có FBS có hoặc không Gemcitabine 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ vào từng đĩa chèn, và duy trì 48 tiếng trong tủ nuôi cấy. Sau đó, loại bỏ tế bào không xâm lấn ở mặt trên của giếng chèn bằng cạo tăm bông. Tế bào xâm lấn ở đáy của giếng chèn được cố định (100% ethanol trong 2 phút), nhuộm (1% Toluidine xanh + 1% borax trong 2 phút), rồi rửa nhiều lần bằng nước cất hai lần. Đĩa chèn được hong khô ở nhiệt độ phòng, cố định lên phiến kính và nhiều ảnh của tế bào xâm lấn được chụp dưới kính hiển vi (Zeiss microscope, Đức). Tính số lượng tế bào xâm lấn bằng phần mềm ImageJ. Thí nghiệm được lặp lại 3 lần độc lập, mỗi lần thí nghiệm tái lập 3 lần. Công thức tính chỉ số xâm lấn:

Chỉ số xâm lấn =

$$\frac{\% \text{ tế bào xâm lấn ở liều thử nghiệm}}{\% \text{ tế bào xâm lấn ở chứng}} \times 100$$

Thí nghiệm western blot: Các tế bào được gieo nuôi cùng mật độ ban đầu, và thu hoạch khi mật độ tế bào khoảng 70-90%. Thu tế bào bằng rửa hai lần trong PBS lạnh, ly giải trong đệm RIPA có chứa chất ức chế protease và chất ức chế phosphatase (Roche, Đức) khoảng 30 phút.

Sau đó, các mẫu được sonicated, rồi ly tâm ở tốc độ tối đa (30 phút, 4°C) và thu dịch nổi. Nồng độ protein được xác định bằng bộ kit định lượng protein (Biorad, Đức), đo ở bước sóng 650 - 350 nm bằng máy đo quang phổ (BioTek, Đức). Đường chuẩn được xây dựng để xác định nồng độ protein dựa trên OD. Một lượng protein bằng nhau được trộn với thuốc nhuộm Western blot 4X và biến tính (95°C, 5 phút), và nạp số lượng protein bằng nhau sau biến tính vào từng giếng gel acrylamide (BioRad, Đức), rồi điện di và chuyển qua màng polyvinylidene Difluoride. Tiếp theo, màng được ủ trong 5% Albumin Fraction V (Roth, Đức) trong TBS-T trong 1h, sau đó là ba bước rửa trong TBS-T, 10 phút mỗi bước ở nhiệt độ phòng. Sau đó, từng kháng thể thứ nhất được áp dụng cho từng màng ở độ pha loãng tương ứng và được ủ ở trong phòng lạnh qua đêm. Ngày hôm sau, các kháng thể thứ nhất được loại bỏ và ba bước rửa được áp dụng, mỗi lần 10 phút trước khi ủ với một kháng thể thứ cấp trong 1h. Sau đó, các màng được rửa ba lần trong TBS-T, mỗi lần 10 phút sau đó ủ trong super signal west Pico Chemiluminescent Substrate (Thermo Scientific, Đức) và tín hiệu được phát hiện trên Amersham Hyperfilm Enhanced Chemiluminescence (GE

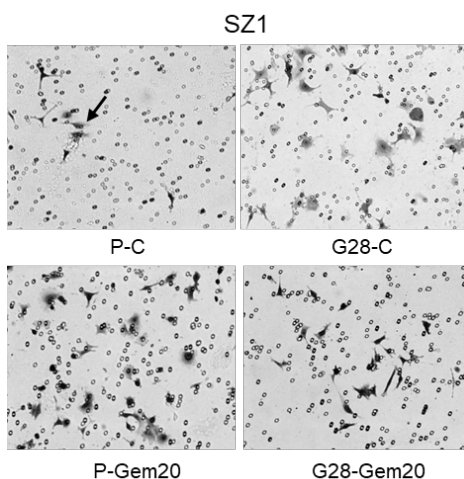
Healthcare Limited, Anh). β -actin được sử dụng làm nội chứng.

Xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm GraphPad Prism. Sự khác biệt được phân tích thống kê khi có lặp lại 3 lần độc lập. Sự khác biệt giữa các nhóm được phân tích bằng Student's t-test hoặc Anova 1 chiều và so sánh từng cặp bằng kiểm định posthoc. Sự khác biệt được coi là có ý nghĩa thống kê nếu $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ

1. Ảnh hưởng của Gemcitabine lên đặc tính xâm lấn tế bào SZ1-P và SZ1-G28

Đặc tính xâm lấn của tế bào ung thư là một trong những vấn đề được quan tâm nhất trong điều trị ung thư nhằm hạn chế sự tái phát và di căn. Các thử nghiệm trên môi trường *in vitro* thường tập trung vào thử nghiệm tế bào di trú vì dễ thực hiện và chi phí thấp. Tuy nhiên, mô hình này có một số hạn chế như chỉ phản ánh môi trường 2D và không có các mô phỏng thực tế quá trình xâm lấn trên cơ thể sống. Do đó, trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng mô hình xâm lấn tế bào, có sự kết hợp sử dụng matrix gel như một màng ngăn mô phỏng sự xâm lấn của tế bào ung thư trên cơ thể.

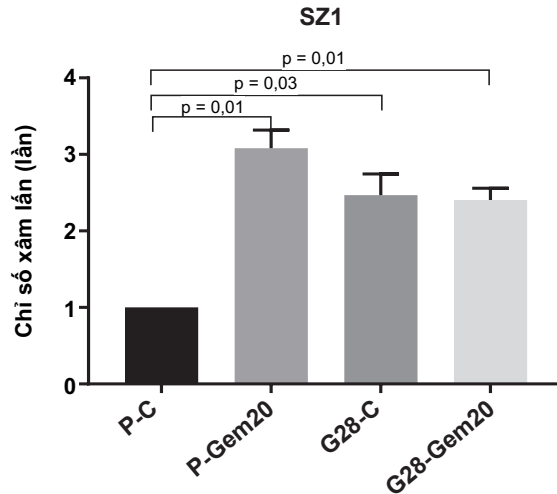


Hình 1. Hình ảnh của tế bào xâm lấn SZ1-P và SZ1-G28 trong điều kiện không tiếp xúc (C) và có tiếp xúc với Gemcitabine 20µg/mL (Gem). Mũi tên: Tế bào xâm lấn

P-C: Tế bào không kháng, không tiếp xúc Gemcitabine; G28-C: Tế bào kháng, không tiếp xúc Gemcitabine; P-Gem: Tế bào không kháng, tiếp xúc với Gemcitabine 20µg/mL; G28-Gem: Tế bào kháng, tiếp xúc với Gemcitabine 20µg/mL

Hình ảnh các tế bào được nhuộm tím sau khi xâm lấn qua màng matrix gel để xuyên sang mặt đối diện của màng đáy giếng nuôi. Hình ảnh cho thấy các tế bào ung thư đường mật

trong gan có và không kháng Gemcitabine đều có khả năng xâm lấn qua màng với các mức độ khác nhau (Hình 1).



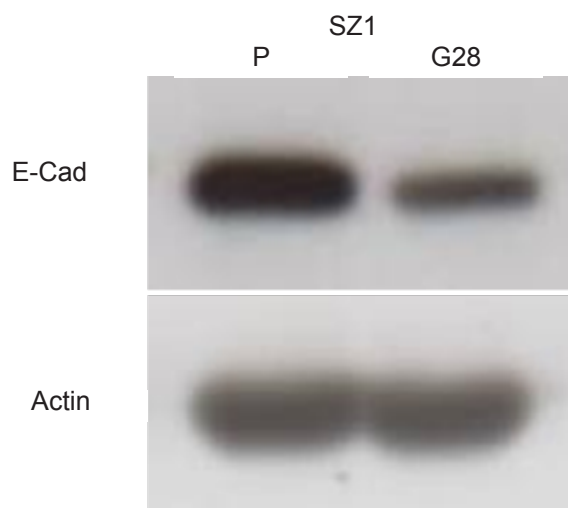
Biểu đồ 1. Kết quả đánh giá mức độ xâm lấn tế bào của các dòng tế bào ung thư đường mật trong gan có và không kháng Gemcitabine dưới các điều kiện khác nhau.

P-C: Tế bào không kháng, không tiếp xúc Gemcitabine; G28-C: Tế bào kháng, không tiếp xúc Gemcitabine; P-Gem20: Tế bào không kháng, tiếp xúc với Gemcitabine 20 µg/mL; G28-Gem20: Tế bào kháng, tiếp xúc với Gemcitabine 20 µg/mL.

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ xâm lấn của dòng tế bào ung thư đường mật trong gan kháng Gemcitabine (SZ1G28) tăng đáng kể so với dòng tế bào nhạy thuốc (SZ1P). Đáng chú ý, khi bổ sung Gemcitabine ở nồng độ 20 µg/mL vào môi trường nuôi cấy, khả năng xâm lấn của cả SZ1P và SZ1G28 đều gia tăng so với SZ1P không điều trị. Cụ thể, Gemcitabine 20 µg/mL thúc đẩy đáng kể sự di trú của SZ1P ($p = 0,01$). Trong điều kiện tiếp xúc với Gemcitabine 20 µg/mL, dòng SZ1G28Gem biểu hiện mức độ xâm lấn cao hơn SZ1P-C không điều trị, $p = 0,01$. Những kết quả này gợi ý rằng tình trạng kháng Gemcitabine cũng như việc tiếp xúc với Gemcitabine đều có thể thúc đẩy quá trình di trú của tế bào ung thư đường mật trong gan (Biểu đồ 1).

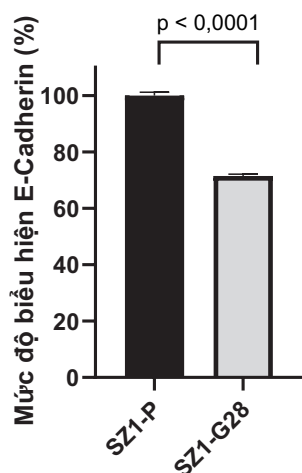
2. Giảm biểu hiện của protein E-Cadherin ở tế bào ung thư đường mật trong gan kháng Gemcitabine SZ1-G28 so với tế bào không kháng SZ1-P

Để khảo sát các thay đổi phân tử lí giải cho các biến đổi về đặc tính xâm lấn tế bào, các protein liên quan đến quá trình chuyển đổi trung biểu mô được quan tâm hàng đầu. Một trong số đó là E-Cadherin, protein liên quan đến sự kết dính và ổn định của tế bào, hạn chế sự di trú và xâm lấn của tế bào. Trong nghiên cứu này, sau khi quan sát thấy sự gia tăng về mức độ xâm lấn của hai dòng tế bào khi tiếp xúc với Gemcitabine, chúng tôi tiến hành khảo sát biểu hiện của E-Cadherin trên cả hai dòng tế bào và sử dụng nội chứng là biểu hiện của β -actin.



Hình 2. Hình ảnh điện di đánh giá biểu hiện của E-Cadherin và β -actin ở tế bào SZ1-P và SZ1-G28. P: Tế bào không kháng; G28: Tế bào kháng

Đánh giá biểu hiện của protein chỉ điểm liên quan đến quá trình chuyển đổi trung biểu mô E-Cadherin ở tế bào ung thư đường mật trong gan không kháng và kháng Gemcitabine bằng western blot. Kết quả cho thấy, biểu hiện của E-Cadherin giảm đáng kể ở tế bào kháng Gemcitabine SZ1-G28, so với tế bào không kháng Gemcitabine SZ1-P (Hình 2).



Biểu đồ 2. Kết quả so sánh biểu hiện của E-Cadherin ở tế bào SZ1-P và SZ1-G28

Sử dụng phần mềm phân tích hình ảnh ImageJ để bán định lượng biểu hiện của protein E-Cadherin so sánh với nội chuẩn β -actin trên

hai dòng tế bào SZ1-P và SZ1-G28. Kết quả cho thấy có sự khác biệt về biểu hiện E-Cadherin trên hai dòng tế bào này. Trong đó, SZ1-P biểu hiện E-Cadherin cao hơn so với SZ1-G28 ($p < 0.0001$, *Biểu đồ 2*).

IV. BÀN LUẬN

Ung thư đường mật thường được phát hiện muộn, tiên lượng xấu và hiệu quả điều trị hạn chế. Với ung thư đường mật tiến triển không còn chỉ định phẫu thuật triệt căn, Gemcitabine-Cisplatin là liệu pháp đầu tay từ 2010, nhưng hiệu quả hạn chế với thời gian sống trung bình 11,7 tháng và thời gian bệnh không triển triển trung bình 8 tháng.⁵ Báo cáo năm 2026 cho thấy bổ sung thêm chất ức chế miễn dịch như Durvalumab cải thiện phần nhỏ hiệu quả điều trị với thời gian sống trung bình tăng lên 14,1 tháng.^{5,6} Vì vậy, cần phân tích đặc điểm kháng Gemcitabine để tìm giải pháp hiệu quả hơn.

Sau khi thiết lập thành công tế bào ung thư đường mật kháng Gemcitabine, chúng tôi phân tích, so sánh đặc điểm của tế bào kháng và đáp ứng của chúng với Gemcitabine. Kết quả của chúng tôi chỉ ra rằng tế bào ung thư đường mật trong gan kháng Gemcitabine (SZ1-G28)

tăng xâm lấn so với tế bào không kháng SZ1-P. Nghiên cứu trên ung thư tụy và ung thư đường mật đa kháng thuốc cũng cho thấy tế bào ung thư đường mật đa kháng thuốc và ung thư tụy kháng Gemcitabine tăng xâm lấn, bám dính và di trú so với tế bào không kháng.^{7,8} Trong một nghiên cứu khác trên tế bào ung thư đường mật trong gan MT-CHC01, không có sự khác biệt trong di trú và xâm lấn giữa tế bào kháng và không kháng Gemcitabine.⁹ Ngược lại, tế bào ung thư tụy mật kháng Gemcitabine di căn và xâm lấn ít hơn so với tế bào không kháng.¹⁰ Sự khác biệt về thay đổi khả năng xâm lấn của tế bào kháng Gemcitabine giữa các loại tế bào ung thư đường mật và tụy mật có thể liên quan đến sự khác biệt trong kiểu gen của tế bào ban đầu. Để có thể làm rõ cơ chế liên quan đến sự thay đổi khác biệt này, cần các phân tích sâu, hệ thống và đồng thời trên các dòng tế bào. Tuy nhiên, sự khác biệt đó là căn cứ phù hợp của việc cần phân tích cơ chế kháng thuốc độc lập cho từng phân nhóm ung thư. Hơn nữa, ung thư đường mật trong và ngoài gan có nhiều khác biệt trong biến đổi phân tử, đột biến và cơ chế trốn thoát điều trị.¹¹ Mặc dù, có nhiều tương đồng trong phát triển kháng Gemcitabine¹¹, nhưng việc quy chung cơ chế kháng của các loại ung thư đường mật có thể dẫn đến các nhận định không phù hợp và định hướng lệch giải pháp. Đồng thời, kết quả nghiên cứu này cũng chỉ ra SZ1-P-Gem20 xâm lấn mạnh mẽ hơn so với SZ1-P, gợi ý rằng Gemcitabine 20 µg/mL thúc đẩy sự xâm lấn của tế bào không kháng SZ1-P. Sự thúc đẩy xâm lấn của Gemcitabine là phát hiện mới, gợi ý rằng bên cạnh khả năng ức chế sự sống và tiêu diệt quần thể nhạy, Gemcitabine có liên quan đến sự gia tăng khả năng xâm lấn của tế bào ung thư đường mật.

Kháng Gemcitabine bao gồm đa cơ chế, trong đó có sự chuyển đổi từ kiểu hình biểu mô sang kiểu hình trung mô (Epithelial-to-mesenchymal transition-EMT).¹¹ EMT liên quan đến khả năng

di động của tế bào và đóng góp vào khởi phát, tiến triển ung thư, sự xâm lấn, di căn, đặc tính tế bào gốc và kháng thuốc bằng tương tác trực tiếp hoặc thông qua vi môi trường khối u. EMT định hình lại kiểu hình của tế bào khối u thông qua nhiều con đường truyền tín hiệu và cơ chế kháng thuốc của nó.¹² Hơn nữa, nhiều EMT tồn tại trong khối u, tạo ra môi trường vi mô viêm nhiễm, đặc tính tế bào gốc, xâm lấn và di căn.¹³ Nghiên cứu này phân tích biểu hiện của protein E-Cadherin giữa tế bào kháng và không kháng Gemcitabine.¹² E-Cadherin là một protein xuyên màng, có vai trò như một protein ức chế ung thư thông qua tác động lên sự tăng sinh và xâm lấn, di căn của tế bào ung thư.¹⁴ Giảm biểu hiện của E-Cadherin có liên quan đến sự gia tăng khả năng di chuyển và xâm lấn của tế bào và kiểu hình ác tính hơn, cũng như tiên lượng xấu trong ung thư.¹⁴ Giảm biểu hiện E-Cadherin tham gia vào cơ chế kháng Gemcitabine của ung thư đường mật.¹¹ Giảm biểu hiện của E-Cadherin bằng siRNA làm tăng di trú và xâm lấn cũng như tăng biểu hiện của các chất chỉ điểm di căn (như Vimentin).¹⁵ Kết quả này cũng cố lập luận về vai trò E-Cadherin trong duy trì sự kết dính tế bào, và giảm E-Cadherin vừa là nguyên nhân vừa là biểu hiện của tăng xâm lấn và di căn. Kết quả về sự tăng xâm lấn của tế bào kháng Gemcitabine với giảm biểu hiện của E-Cadherin đồng thuận chỉ ra sự liên quan giữa biến đổi đặc tính hướng ác tính hơn, xâm lấn hơn khi kháng Gemcitabine.

Mặc dù có nhiều tương đồng, vẫn tồn tại sự khác biệt trong kiểu gen, tần suất các đột biến gen và biến đổi đặc tính xâm lấn giữa tế bào ung thư đường mật. Vì vậy, cần nghiên cứu cơ chế và phát triển kháng Gemcitabine trên từng phân loại ung thư. Nghiên cứu này chỉ ra sự tăng xâm lấn của kháng Gemcitabine so với không kháng và gợi ý điều trị bằng Gemcitabine làm tăng tính xâm lấn của tế bào ung thư đường mật trong gan. Nghiên cứu cũng chỉ ra sự giảm biểu

hiện của E-Cadherin ở tế bào kháng, gợi ý rằng giảm E-Cadherin có thể đồng thời là cơ chế và là biểu hiện của sự tăng tính xâm lấn của tế bào kháng Gemcitabine. Tế bào xâm lấn mạnh hơn khi tiếp xúc với Gemcitabine *in vitro* là một phát hiện mới. Tuy nhiên, nghiên cứu hạn chế khi chỉ tiến hành trên một dòng tế bào và chưa xác nhận đầy đủ kiểu hình kháng thuốc. Vì vậy, cần nghiên cứu sâu hơn để làm rõ cơ chế và nguy cơ khi điều trị bằng Gemcitabine.

V. KẾT LUẬN

Kháng Gemcitabine và tiếp xúc với Gemcitabine liên quan đến tăng xâm lấn của tế bào ung thư đường mật trong gan trên thực nghiệm. Tế bào ung thư đường mật trong gan kháng Gemcitabine SZ1-G28 giảm biểu hiện protein ức chế xâm lấn E-Cadherin so với tế bào không kháng. Hạn chế của nghiên cứu là chỉ phân tích trên một dòng tế bào, và thiếu các phân tích về kiểu hình, kiểu gen và cơ chế liên quan.

Lời cảm ơn

Tôi xin trân trọng cảm ơn Trung tâm nghiên cứu động vật thực nghiệm, Phòng Trang bị vật tư, Phòng Khoa học Quân sự, Đảng ủy-Ban giám đốc Học viện Quân y.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyen MLT, Toan NL, Bozko M, et al. Cholangiocarcinoma Therapeutics: An Update. *Curr Cancer Drug Targets*. 2021;21(6):457-475. doi:10.2174/1568009621666210204152028
2. Putra J, de Abreu FB, Peterson JD, et al. Molecular profiling of intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma using next generation sequencing. *Exp Mol Pathol*. Oct 2015;99(2):240-4. doi:10.1016/j.yexmp.2015.07.005
3. Gopal P, Robert ME, Zhang X. Cholangiocarcinoma: Pathologic and Molecular

Classification in the Era of Precision Medicine. *Arch Pathol Lab Med*. Mar 1 2024;148(3):359-370. doi:10.5858/arpa.2022-0537-RA

4. Lowery MA, Ptashkin R, Jordan E, et al. Comprehensive Molecular Profiling of Intrahepatic and Extrahepatic Cholangiocarcinomas: Potential Targets for Intervention. *Clinical Cancer Research*. 2018;24(17):4154-4161. doi:10.1158/1078-0432.Ccr-18-0078

5. Valle J, Wasan H, Palmer DH, et al. Cisplatin plus gemcitabine versus gemcitabine for biliary tract cancer. *N Engl J Med*. Apr 8 2010;362(14):1273-81. doi:10.1056/NEJMoa0908721

6. Khasawneh B, Esmail A, Hamadneh Y, et al. First-line immunotherapy plus gemcitabine–cisplatin versus chemotherapy alone in advanced cholangiocarcinoma: A meta-analysis. *Journal of Clinical Oncology*. 2026;44(2_suppl):573-573. doi:10.1200/JCO.2026.44.2_suppl.573

7. Wattanawongdon W, Hahnvajjanawong C, Namwat N, et al. Establishment and characterization of gemcitabine-resistant human cholangiocarcinoma cell lines with multidrug resistance and enhanced invasiveness. *Int J Oncol*. Jul 2015;47(1):398-410. doi:10.3892/ijo.2015.3019

8. Wang R, Cheng L, Xia J, et al. Gemcitabine resistance is associated with epithelial-mesenchymal transition and induction of HIF-1 α in pancreatic cancer cells. *Curr Cancer Drug Targets*. 2014;14(4):407-17. doi:10.2174/1568009614666140226114015

9. Varamo C, Peraldo-Neia C, Ostano P, et al. Establishment and Characterization of a New Intrahepatic Cholangiocarcinoma Cell Line Resistant to Gemcitabine. *Cancers*. 2019;11(4):519.

10. Xu M, Xu S, Jiang B, Man Z. Establishment and characterization of the

gemcitabine-resistant human gallbladder cancer cell line NOZ GemR. *Ann Med Surg (Lond)*. Mar 2024;86(3):1396-1400. doi:10.1097/ms9.0000000000001665

11. Kidoikhammouan S, Saengboonmee C, Wongkham S, Seubwai W. Molecular Mechanisms of Gemcitabine Resistance in Cholangiocarcinoma. *Oncol Res*. 2025;33(12):3679-3699. doi:10.32604/or.2025.069027

12. Zhang X, Qi B, Chen J. Clinical application and drug resistance mechanism of gemcitabine. *Front Cell Dev Biol*. 2025;13:1702720. doi:10.3389/fcell.2025.1702720

13. Zhang CX, Huang RY-J, Sheng G,

Thierry JP. Epithelial-mesenchymal transition. *Cell*. 2025;188(20):5436-5486. doi:10.1016/j.cell.2025.08.033

14. Kumari P, Dash S, Samanta D. E-cadherin: A potential biomarker in cancer and a therapeutic target. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer*. 2025/11/01/ 2025;1880(6):189466. doi:https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2025.189466

15. Techasen A, Loilome W, Namwat N, et al. Loss of E-cadherin promotes migration and invasion of cholangiocarcinoma cells and serves as a potential marker of metastasis. *Tumour Biol*. Sep 2014;35(9):8645-52. doi:10.1007/s13277-014-2087-6

Summary

EFFECTS OF GEMCITABINE ON THE INVASIVENESS AND E-CADHERIN EXPRESSION OF INTRAHEPATIC CHOLANGIOCARCINOMA CELLS

This study was conducted to investigate the effect of Gemcitabine on the invasiveness and expression of E-Cadherin in gemcitabine-resistant intrahepatic cholangiocarcinoma (iCCC) cells. Gemcitabine-resistant iCCC cells (SZ1-G28) were established and maintained in the laboratory. Invasive capacity was compared between iCCC resistant and non-resistant cells with and without gemcitabine using invasion assays. E-Cadherin protein expression in both gemcitabine-resistant and non-resistant cells was evaluated *in vitro* by Western blot. Gemcitabine-resistant SZ1-G28 cells exhibited significantly increased invasiveness compared to non-resistant cells. Treatment with gemcitabine 20 µg/mL promoted invasion in the parental cell line (SZ1-P). Furthermore, E-Cadherin expression was reduced in SZ1-G28 cells relative to SZ1-P cells. Gemcitabine resistance and gemcitabine treatment enhance the aggressiveness and plasticity of iCCC cells, leading to increased cellular invasiveness. Concurrently, E-Cadherin expression is downregulated in gemcitabine-resistant cells compared to the parental non-resistant cells. These findings suggest that both resistance and treatment with gemcitabine promote the invasiveness of iCCC cells, associated with decreased E-Cadherin expression.

Keywords: Intrahepatic cholangiocarcinoma, gemcitabine resistance, invasion, metastasis, E-Cadherin.