**TRANG THÔNG TIN VỀ LUẬN ÁN**

Tên đề tài luận án: **Nghiên cứu cơ chế phân tử kháng ung thư của bài thuốc Nam địa long**

Chuyên ngành: Di truyền học

Mã số: 62 42 70 01

Họ tên NCS: **Nguyễn Thị Mỹ Nương**

Khóa đào tạo: 2012

Người hướng dẫn: **PGS.TS. Hồ Huỳnh Thùy Dương**

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên- ĐHQG.HCM

**1. TÓM TẮT NỘI DUNG LUẬN ÁN:**

Y học cổ truyền hay dân gian đóng vai trò quan trọng trong phòng và trị bệnh ở nhiều quốc gia, trong đó có Việt Nam. Tuy nhiên, các nghiên cứu theo hướng khoa học hiện đại để chứng minh tác dụng và chất lượng của thuốc thì rất hạn chế. Bài thuốc Nam địa long (NĐL) là một bài thuốc thuần Việt, gồm bốn thành phần là Địa long (*Pheretima aspergillum* Michaelsen); Đậu đen (*Vigna unguiculata* Walp.), Đậu xanh (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) và Bồ ngót (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). Trong dân gian NĐL được sử dụng điều trị nhiều bệnh khác nhau như sốt xuất huyết, động kinh, viêm khớp, ung thư,… nhưng chưa có công bố khoa học nào về bài thuốc này. Do đó, công trình này nghiên cứu tác dụng kháng ung thư và cơ chế phân tử kháng ung thư *in vitro* của bài thuốc này. Đồng thời luận án cũng đưa ra một số tiêu chí của “dấu vân tay hóa học và sinh học” hỗ trợ trong kiểm soát chất lượng bài thuốc.

Kết quả cho thấy NĐL ức chế sinh trưởng ở dòng tế bào ung thư gan Hep G2, ung thư phổi NCI H460 và ung thư vú MCF-7 với IC50 lần lượt là 2,55 mg/mL, 3,15 mg/mL và 0,63 mg/mL, trong đó nhạy nhất ở MCF-7. NĐL gây độc chọn lọc ở tế bào ung thư vú MCF-7 hơn so với nguyên bào sợi bình thường với SI là 6,45. Các vị thành phần có tác động hiệp trợ để tạo nên tác động gây độc tế bào ở bài thuốc. NĐL làm thay đổi biểu hiện 54 gene sau 24 h và 601 gene sau 48 h xử lý. Phần lớn các gene thay đổi biểu hiện ở 24 h sau cảm ứng NĐL liên quan đến hoạt động biến dưỡng các chất ngoại lai. Trong khi đó ở 48 h sau cảm ứng NĐL, phần lớn các gene liên quan đến con đường gây chết tế bào. NĐL gây chết tế bào theo nhiều con đường tín hiệu khác nhau: đáp ứng UPR/ER stress và stress oxy hóa, đáp ứng tổn thương DNA, ức chế chu trình tế bào, cảm ứng apoptosis với hai pha đáp ứng rõ nét là: thích nghi, tồn tại ở giai đoạn sớm và sau đó là kích hoạt con đường tín hiệu apoptosis.

**2. NHỮNG KẾT QUẢ MỚI CỦA LUẬN ÁN:**

Đề tài đã sử dụng các phân tích bộ gene kết hợp với các phương pháp sinh học phân tử như realtime RT-PCR để khảo sát cơ chế hoạt động của bài thuốc Việt Nam. Bài thuốc NĐL có tác dụng ức chế chọn lọc tế bào ung thư vú MCF-7 so với nguyên bào sợi bình thường. Tác động gây chết MCF-7 của NĐL là tác động hiệp trợ của các vị thành phần, là sự phối hợp nhiều cơ chế phân tử khác nhau. Các con đường tín hiệu tế bào được hoạt hóa bởi NĐL là: stress mạng lưới nội chất, stress oxi hóa, đáp ứng tổn thương DNA qua p53, dừng chu trình tế bào và hoạt hóa apoptosis.

“Dấu vân tay hóa học” là đường sắc kí đồ HPLC, hàm lượng hợp chất phenol tổng, flavonoid tổng, vitexin và “dấu vân tay sinh học” là sự thay đổi biểu hiện các gene GRP78, BCL2 và GDF15 được đề xuất làm tiêu chí kiểm soát chất lượng bài thuốc sau này.

**3. CÁC ỨNG DỤNG/ KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG TRONG THỰC TIỄN HAY NHỮNG VẤN ĐỀ CÒN BỎ NGỎ CẦN TIẾP TỤC NGHIÊN CỨU**

* Xác định tác động của bài thuốc NĐL trên dòng tế bào biểu mô vú bình thường MCF10-A, để đánh giá tính gây độc chọn lọc của bài thuốc một cách thuyết phục hơn.
* Xác nhận một số con đường tín hiệu tế bào khác được dự đoán bởi IPA như con đường liên quan estrogen, thụ thể aryl hydrocarbon, … ở mức phiên mã và dịch mã. Đồng thời xác nhận thêm ở mức protein hay đặc điểm kiểu hình của các con đường tín hiệu đã khảo sát, như xác định mức độ Ca2+, mức độ ROS, phát hiện tổn thương trong tế bào xử lý NĐL, …
* Xác định tác động kháng ung thư của bài thuốc ở mức *in vivo*, trên mô hình chuột mang khối u.
* Khảo sát tác động bài thuốc ở các biến thể khác như tỉ lệ các thành phần khác hay cách chiết tách khác.

|  |  |
| --- | --- |
| **CÁN BỘ HƯỚNG DẪN**  **Hồ Huỳnh Thùy Dương** | **NGHIÊN CỨU SINH**  **Nguyễn Thị Mỹ Nương** |

**XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO**

**PHÓ HIỆU TRƯỞNG**

**Trần Lê Quan**

**INFORMATION OF DOCTORAL THESIS**

Thesis title: **Molecular mechanisms of anticancer effects of Nam Dia Long formula**

Major: Genetics

Major code: 62 42 70 01

PhD Student: **Nguyen Thi My Nuong**

Academic year: 2012

Supervisor: **Assoc. Prof. Ho Huynh Thuy Duong**

At: University of science – VNU.HCMC

**1. ABSTRACT:**

Traditional medicine plays an integral role in Vietnamese healthcare system, but scientific data are limited. Nam Dia Long (NDL) is a Vietnamese traditional formula, including earthworm (*Pheretima aspergillum,* 10g), black bean (*Vigna unguiculata* Walp., 20g), mung bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek, 20g) and sweet leaf (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.), 40g). NDL is used for the treatment of some chronic diseases, including cancers. However, it lacks evidence-based support. In this study, we investigated anti-cancer activity and molecular mechanisms of NDL decoction. Moreover, we established “chemical fingerprinting” as well as “biological fingerprinting” of NDL decoction as a contribution to quality control of the formula.

The result showed that NDL significantly inhibited the growth of cancer cell lines MCF-7, Hep G2 and NCI H460 compared to non-tumor cells (human primary fibroblasts). MCF-7 cells were more sensitive to NDL than the other cancer cell lines tested (SI 6.45). Analysis of the combination index demonstrated strong synergism of NDL ingredients that enhanced cytotoxicity of the complete formula. All combinations of ingredients showed lower cytotoxicity than that of the whole formula. Microarray data revealed differential regulation of about 54 and 601 genes of MCF-7 cells treated with 0.63 mg/mL NDL for 24 and 48 h, respectively. Genes with altered expression at 24 hours were mostly involved in cell responses to xenobiotic stress whereas genes differentially expressed at 48 hours were related to endoplasmic reticulum stress, DNA damage and cell cycle control. NDL elicited a two-stage response in MCF-7 treated cells with apoptosis as the ultimate result. Apoptosis of NDL treated MCF-7 cells resulted from a combination of different mechanisms including the intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis, cell cycle arrest- and oxidative stress-related cell death.

**2. INNOVATIONS OF THE THESIS:**

*Utilization of genome-wide analysis combined with molecular methods such as realtime RT-PCR to investigate the mechanisms of action of a Vietnamese traditional formula.* NDL exhibited selective cytotoxicity toward MCF-7 cells. This effect probably resulted from synergistic interactions among the NDL ingredients. Apoptosis of NDL treated MCF-7 cells resulted from a combination of different mechanisms including the intrinsic and extrinsic pathways, cell cycle arrest- and oxidative stress-related cell death.

*Establishment of biological fingerprinting to be used as a quality control criterion.* HPLC profile, total phenolic and flavonoid compounds and BLC2, GRP78, GDF15 expression were suggested for quality control of NDL remedy.

**3. THE OUTCOME AND UPCOMING RESEARCH**

* Investigating the cytotoxicity of NDL on non-tumorigenic epithelial cell lines (e.g. MCF10A)
* Investigating other cellular pathways such as aryl hydrocarbon, estrogen pathway, …
* Determining of *in vivo* anticancer activity of NDL decoction
* Investigating anticancer activity of other NDL extracts

|  |  |
| --- | --- |
| **SUPERVISOR**  **Ho Huynh Thuy Duong** | **PhD STUDENT**  **Nguyen Thi My Nuong** |

**CONFIRMATION OF THE UNIVERSITY OF SCIENCE**

**VICE PRESIDENT**

**Tran Le Quan**