

## ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CỦA THUỐC ỨC CHẾ WEE1 ADAVOSERTIB TRÊN TẾ BÀO U NGUYÊN BÀO THẦN KINH ĐỆM

*Bùi Khắc Cường<sup>1,2,3</sup>, Phan Đức Trung<sup>2,4</sup>, Nguyễn Thị Mai Ly<sup>5\*</sup>*

### Tóm tắt

**Mục tiêu:** Đánh giá tác dụng ức chế của thuốc Adavosertib (chất ức chế WEE1) đối với sự tăng sinh, khả năng tạo cụm tế bào cũng như khả năng di trú của dòng tế bào u nguyên bào thần kinh đệm (UNBTKĐ) U-87MG. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu sử dụng chất ức chế WEE1 - Adavosertib và dòng tế bào u não người U-87MG. Các thử nghiệm tăng sinh tế bào, thử nghiệm Crystal Violet và di trú tế bào được sử dụng để đánh giá tác dụng ức chế tăng sinh, tạo cụm và di trú tế bào. **Kết quả:** Adavosertib ảnh hưởng đến hình thái cũng như khả năng sống sót của tế bào. Ở nồng độ 0,125 $\mu$ M, quần thể đạt khoảng 75% so với nhóm chứng; ở nồng độ 0,25 $\mu$ M và 0,5 $\mu$ M, mật độ quần thể giảm rõ, lần lượt khoảng 40% và 30% so với nhóm chứng; IC<sub>50</sub> đạt 0,2334 $\mu$ M. Kết quả nhuộm Crystal Violet cho thấy Adavosertib có ảnh hưởng rõ rệt tới sự tạo cụm của tế bào U-87MG theo liều. Đồng thời, Adavosertib có khả năng ức chế tốc độ di trú của tế bào U-87MG phụ thuộc vào liều điều trị. **Kết luận:** Adavosertib có khả năng ức chế tăng sinh, khả năng tạo cụm tế bào, đồng thời giảm khả năng di trú của tế bào UNBTKĐ trong điều kiện *in vitro*.

**Từ khóa:** Adavosertib; Chất ức chế WEE1; U nguyên bào thần kinh đệm.

## EVALUATION OF THE EFFECTS OF WEE1 INHIBITOR ADAVOSERTIB ON GLIOBLASTOMA CELLS

### Abstract

**Objectives:** To evaluate the inhibitory effect of Adavosertib (a WEE1 inhibitor) on the proliferation, colony formation, and migration of glioblastoma-derived

<sup>1</sup>Khoa Y học Thực nghiệm, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

<sup>2</sup>Trung tâm Nghiên cứu Động vật Thực nghiệm, Học viện Quân y

<sup>3</sup>Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y

<sup>4</sup>Trường Đại học Dược Hà Nội

<sup>5</sup>Bộ môn - Khoa Sinh hóa, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

\*Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Mai Ly (dr.nguyenmaily@gmail.com)

Ngày nhận bài: 08/6/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 19/9/2025

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v50i9.1390>

U-87MG cell line. **Methods:** The study utilized WEE1 inhibitor - Adavosertib and glioblastoma cell line U-87MG. Cell proliferation assay, Crystal Violet staining, and cell migration were used to assess the inhibitory effects on cell viability, colony formation, and cell migration. **Results:** Adavosertib altered U-87MG cell morphology and viability in a dose-dependent manner. At  $0.125\mu\text{M}$ , cell viability was approximately 75% compared to the controls; at  $0.25\mu\text{M}$  and  $0.5\mu\text{M}$ , viability declined sharply to about 40% and 30% compared to the controls, respectively, yielding an  $\text{IC}_{50}$  of  $0.2334\mu\text{M}$ . Crystal Violet staining demonstrated a marked, dose-dependent reduction in cell colony formation. In addition, Adavosertib significantly inhibited U-87MG cell migration in a dose-dependent fashion. **Conclusion:** Adavosertib had the ability to inhibit cell proliferation, colony formation, and reduce the migration ability of glioblastoma cells *in vitro*.

**Keywords:** Adavosertib; WEE1 inhibitor; Glioblastoma.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

U nguyên bào thần kinh đệm là dạng u não ác tính phổ biến và nguy hiểm nhất, chiếm hơn một nửa số ca u não nguyên phát. Bệnh nhân thường chỉ có tiên lượng sống rất thấp mặc dù đã được kết hợp nhiều phương pháp điều trị [1]. Với tình hình đó, rất nhiều phương pháp điều trị mới được ra đời, một trong số chúng là các liệu pháp điều trị đích, các thuốc sẽ nhắm tới những protein đặc hiệu và thường có biểu hiện cao trong tế bào ung thư. Trong quá trình nghiên cứu về UNBTKĐ, các nhà khoa học đã phát hiện được sự tăng biểu hiện của WEE1 - kinase điều hòa trạm kiểm soát G2/M. Sự tăng biểu hiện của WEE1 trên ung thư giúp chúng vượt qua được những tác nhân gây tổn thương DNA [2]. Hiện nay, chất ức chế WEE1 tiềm năng nhất trên thị trường là Adavosertib, thuốc đã được chứng minh là có ảnh hưởng tới chu trình tế bào trên một số báo cáo

*in vitro*, *in vivo* cũng như tiền lâm sàng nhưng hầu hết các báo cáo đều nhắm tới tác dụng phối hợp của thuốc với các tác nhân gây tổn thương DNA khác. Dữ liệu về cơ chế tác dụng cũng như tiềm năng đơn trị liệu của loại thuốc này trên các dòng u não vẫn còn hạn chế. Nhận thấy sự thiếu hụt này, nhóm nghiên cứu tập trung vào việc đánh giá chi tiết tác dụng của Adavosertib với mục tiêu: *Đánh giá tác dụng ức chế của thuốc Adavosertib đối với sự tăng sinh cũng như khả năng di trú của tế bào U-87MG.*

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng Adavosertib (mã thương mại, Selleckchem), thuốc đường uống có tác dụng ức chế hoạt động của WEE1. Các thử nghiệm được tiến hành trên dòng tế bào U-87MG (mã số HTB-14), có nguồn gốc từ ATCC (Hoa

Kỳ), là dòng tế bào có nguồn gốc từ UNBTKD ở người, được nuôi ở nhiệt độ 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, trong môi trường DMEM + 10% huyết thanh bào thai bò (FBS).

\* *Địa điểm và thời gian nghiên cứu:*  
Tại Trung tâm Nghiên cứu Động vật Thực nghiệm, Học viện Quân y từ năm 2023 - 2025.

## 2. Phương pháp nghiên cứu

\* *Thí nghiệm đánh giá khả năng tăng sinh của tế bào (thử nghiệm WST-1):*

Các tế bào được gieo ở mật độ 2.000 tế bào/1 giếng của đĩa 96 giếng trong 24 giờ, tế bào bám ổn sẽ được điều trị với các nồng độ khác nhau của thuốc. Khi tế bào đạt 80% ở giếng đối chứng, kết thúc thí nghiệm, môi trường được thay bởi 100μL môi trường nuôi cấy mới có bổ sung 5% WST-1. Sau đó, đĩa được ủ tối trong tủ nuôi cấy ở 37°C và 5% CO<sub>2</sub> trong 2 giờ rồi được đo quang ở mỗi nồng độ của giếng để xác định lượng tế bào sống ở mỗi nồng độ giữa các nhóm điều trị so với nhóm chứng. Tỷ lệ sống của tế bào được tính toán dựa theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ sống (\%)} = \frac{\text{Cường độ ánh sáng nhóm điều trị}}{\text{Cường độ ánh sáng nhóm chứng}} \times 100\%$$

\* *Thí nghiệm nhuộm Crystal Violet:*

Tế bào được gieo vào từng giếng của đĩa 12 giếng với mật độ 500 tế bào/giếng. Sau 24 tiếng, tế bào bắt đầu bám đáy thì thay môi trường và điều trị thuốc ở các nồng độ khác nhau. Sau 10 - 12 ngày, khi có giếng đạt mật độ 80%, kết thúc thí nghiệm, các giếng được loại bỏ môi trường và nhuộm bằng dung dịch Crystal Violet 1%. Rửa lại bằng nước cất 2 lần, úp ngược để khô tự nhiên, đĩa được scan hình ảnh, phân tích trên phần mềm ImageJ và xây dựng biểu đồ dựa trên cường độ màu.

\* *Thí nghiệm tế bào di trú:*

Tế bào được gieo trên đĩa 12 giếng (mật độ 2,5 x 10<sup>6</sup> tế bào trên 1 giếng). Sau 24 giờ, tế bào bám và đạt mật độ 80%. Vết rạch được tạo ra ở mỗi giếng bằng cách sử dụng đầu tips 10μL tạo vết rạch. Tế bào nổi được loại bỏ bằng cách rửa nhẹ với PBS rồi tiến hành thay môi trường và điều trị thuốc ở các nồng độ khác nhau. Vết rạch được chụp ảnh sử dụng kính hiển vi soi ngược ở thời điểm 0 giờ, 6 giờ, 20 giờ dọc theo vết rạch dưới đáy đĩa. Diện tích của vết rạch được phân tích trên phần mềm ImageJ. Chỉ số di trú tế bào được tính thông qua so sánh diện tích vết rạch tại thời điểm ban đầu S(0) và thời điểm chụp S(t) với công thức sau đây:

$$\text{Chỉ số di trú tế bào (\%)} = \frac{S(0) - S(t)}{S(0)} \times 100\%$$

\* *Xử lý số liệu:* Bảng kiểm định One-way ANOVA trên phần mềm GraphPad Prism và hình ảnh phân tích trên phần mềm ImageJ.

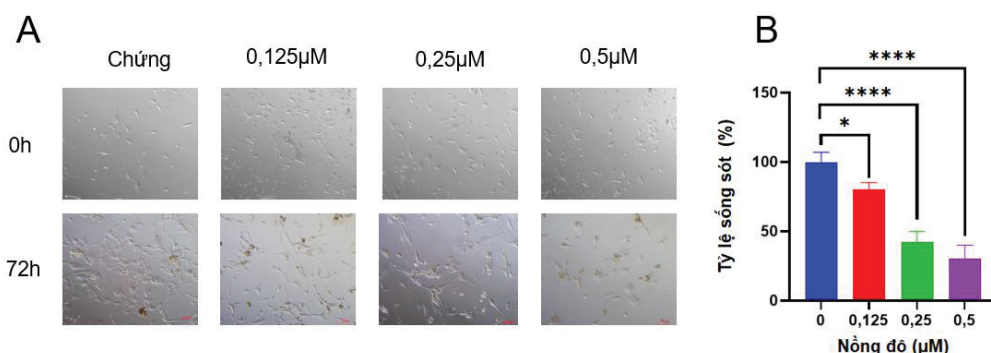
### 3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện theo đúng quy định của Trung tâm Nghiên cứu Động vật Thực nghiệm, Học viện Quân y. Số liệu nghiên cứu được Trung tâm Nghiên cứu Động vật Thực nghiệm, Học viện Quân y cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 1. Thử nghiệm xác định khả năng ức chế tăng sinh của Adavosertib đối với tế bào U-87MG

Để xác định khả năng ức chế tăng sinh của Adavosertib, chúng tôi thực hiện thử nghiệm WST-1 với các nồng độ điều trị là 0,125; 0,25; 0,5 $\mu$ M, còn nhóm đối chứng được nuôi trong môi trường bình thường bổ sung PBS.



A: Tế bào U-87MG trong quá trình làm thí nghiệm tại thời điểm 0 giờ và 72 giờ.

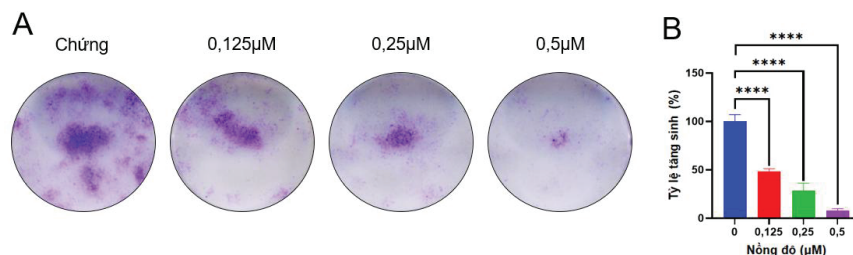
B: Biểu đồ đánh giá tỷ lệ sống sót của tế bào khi điều trị Adavosertib ở các nồng độ khác nhau (\* $p < 0,05$ , \*\*\*\* $p < 0$ , kiểm định One-way ANOVA).

**Hình 1.** Ảnh hưởng của việc điều trị Adavosertib trên các nhóm điều trị của dòng tế bào U-87MG.

Qua kết quả quan sát và đo quang cho thấy thuốc ảnh hưởng đến hình thái của tế bào cũng như khả năng sống sót của chúng. Ở nồng độ 0,125 $\mu$ M, quần thể chỉ đạt khoảng 75% so với nhóm chứng; ở nồng độ 0,25 $\mu$ M và 0,5 $\mu$ M, mật độ quần thể giảm rõ, lần lượt khoảng 40% và 30% so với nhóm chứng; IC<sub>50</sub> đạt 0,2334 $\mu$ M.

### 2. Tác dụng ức chế tạo cụm tế bào của Adavosertib trên thực nghiệm

Nhằm xác định khả năng ức chế tạo cụm tế bào U-87MG của Adavosertib, chúng tôi thiết kế thí nghiệm nhuộm Crystal Violet và trực tiếp phân tích hình ảnh của giếng sau khi quét.



A: Kết quả quét hình ảnh của các giếng sau khi nhuộm với Crystal Violet 1%.

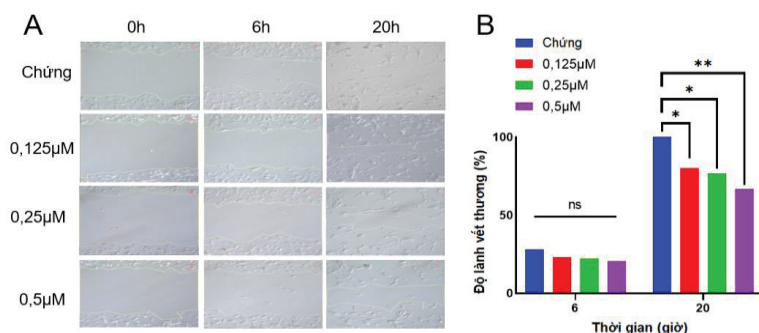
B: Biểu đồ đánh giá tỷ lệ ức chế sự tạo cụm của tế bào khi điều trị Adavosertib ở các nồng độ khác nhau (\*\*\*\* $p < 0$ , kiểm định One-way ANOVA).

**Hình 2.** Kết quả của thí nghiệm nhuộm Crystal Violet nhằm đánh giá tỷ lệ ức chế sự tạo cụm của tế bào U-87MG.

Sau khi nhuộm bằng Crystal Violet, nhóm đối chứng cho thấy tế bào phát triển phủ khắp cả giếng, cường độ bắt màu cao biểu thị mật độ tế bào cao. Trong khi đó, ở các nồng độ tiếp theo, cường độ bắt màu giảm dần: Ở nồng độ 0,125μM, tỷ lệ tạo cụm tế bào đạt khoảng 50% so với đối chứng; ở nồng độ 0,25μM, tỷ lệ tạo cụm tế bào chỉ đạt khoảng 25% so với đối chứng; ở nồng độ 0,5μM, tế bào hầu như không tạo cụm tế bào (tỷ lệ tạo cụm tế bào chỉ đạt dưới 10% so với nhóm đối chứng). Kết quả cho thấy Adavosertib có ảnh hưởng rõ rệt tới sự tạo cụm của tế bào U-87MG theo liều của thuốc.

### 3. Tác dụng ức chế di trú tế bào của Adavosertib trên thực nghiệm

Để đánh giá tác dụng ức chế sự di trú tế bào của Adavosertib, chúng tôi thực hiện thí nghiệm tế bào di trú (wound healing).



A: Hình ảnh vết rạch trong thí nghiệm tại các thời điểm 0, 6, 20 giờ.

B: Biểu đồ phân tích ảnh hưởng của thuốc tới khả năng di trú tế bào thông qua đánh giá mức độ lành vết rạch ( $*p < 0,05$ ,  $**p < 0$ , kiểm định *One-way ANOVA*).

**Hình 3.** Adavosertib ảnh hưởng đến khả năng di trú tế bào U-87MG.

Tại mốc thời điểm 6 giờ, mức độ lành của vết rạch có xu hướng giảm theo chiều tăng dần của nồng độ thuốc, tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Tại thời điểm 20 giờ, đối với nhóm chứng, diện tích vết rạch ban đầu gần như không thể quan sát được (độ lành vết thương gần như đạt 100%); còn đối với nhóm điều trị, các nồng độ thuốc đều cho thấy sự ức chế của chúng đến mức độ di trú tế bào. Ở nồng độ càng cao thì khả năng di trú của tế bào càng giảm. Qua đó, cho thấy thuốc có khả năng giảm tốc độ di trú của tế bào U-87MG, khả năng ức chế của thuốc phụ thuộc vào liều.

### BÀN LUẬN

WEE1 là protein kinase quan trọng trong điều hòa sự tiến triển của chu trình tế bào, đặc biệt là tại điểm kiểm soát G2/M thông qua việc phosphoryl hóa và ức chế các CDK trong chu trình tế bào, từ đó tạm dừng sự tiến triển của chu trình tế bào để các lỗi sai trong hệ gene được sửa chữa [3]. Mục tiêu chính của WEE1 là CDK1, WEE1 phosphoryl hóa các vị trí ức chế (tyrosine 15 và threonine 14) trên CDK1, khi CDK1 bị phosphoryl hóa tại các vị trí này, hoạt động của phức hợp CyclinA/CDK1 và Cyclin B/CDK1 bị ức chế, từ đó ngăn

cản tế bào đi vào giai đoạn nguyên phân [3]. Sự tăng cường biểu hiện của WEE1 được tìm thấy ở rất nhiều dạng ung thư, bao gồm cả UNBTKĐ [2]. Trong bối cảnh đó, Adavosertib - chất ức chế chọn lọc WEE1 - đã và đang được nghiên cứu như tác nhân tiềm năng trong điều trị các loại ung thư có đặc điểm phù hợp. Nghiên cứu của chúng tôi trên mô hình tế bào U-87MG được xem xét đồng thời với các kết quả từ mô hình *in vivo*, *in vitro* và các báo cáo tiền lâm sàng khác nhằm đánh giá toàn diện hiệu quả ức chế của Adavosertib cũng như khả năng ứng dụng trong điều trị UNBTKĐ. So sánh giữa các mô hình sẽ giúp xác định rõ hơn tính nhất quán trong cơ chế tác động, đồng thời củng cố tiềm năng chuyển giao từ nghiên cứu cơ bản sang các pha tiếp theo.

Kết quả nghiên cứu cho thấy Adavosertib có khả năng ức chế đáng kể sự tăng sinh của dòng tế bào U-87MG trong điều kiện *in vitro*. Trong thí nghiệm xác định độc tính, thuốc thể hiện hiệu lực tốt với giá trị  $IC_{50}$  đạt  $0,2334\mu M$ , phản ánh mức độ ức chế phụ thuộc liều một cách rõ rệt. Kết quả này thấp hơn khoảng một nửa so với mức  $IC_{50} = 400nM$  trong nghiên cứu của Cetin và CS trên hai dòng UNBTKĐ khác [4]. Trong nghiên cứu của Roering

và CS trên các dòng tế bào ung thư buồng trứng, liều  $IC_{50}$  lên đến khoảng 578 - 785nM, thậm chí còn có dòng kháng Adavosertib mạnh, không thấy đạt hiệu quả có khác biệt [5]. Điều này cho thấy dòng tế bào U-87MG nhạy cảm hơn với thuốc so với các dòng UNBTKĐ hoặc các tế bào ung thư tại các cơ quan khác. Bên cạnh thí nghiệm xác định khả năng ức chế tăng sinh của thuốc đối với tế bào thông qua thử nghiệm WST-1, chúng tôi cũng làm thêm thí nghiệm nhuộm Crystal Violet với các quần thể tế bào U-87MG. Theo nghiên cứu của Bi và CS trên dòng ung thư thực quản,  $IC_{50}$  tại thử nghiệm WST-1 cao hơn, đạt khoảng 0,55 $\mu$ M, nhưng trong thí nghiệm nhuộm Crystal Violet, hiệu quả ức chế tăng sinh các dòng tế bào ung thư lại mạnh hơn tại nồng độ 0,125 $\mu$ M, tế bào đã bị ức chế tăng sinh đến khoảng 70% [6]. Dữ kiện cho thấy hiệu quả ức chế tăng sinh của Adavosertib có thể thay đổi tùy vào từng loại tế bào và các đặc tính của chúng.

Bên cạnh hiệu quả ức chế tăng sinh, nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy Adavosertib có khả năng làm giảm mức độ di trú của tế bào U-87MG, thể hiện qua tốc độ khép vết rạch chậm hơn trong các nhóm điều trị. Kết quả của Webster và CS trên ung thư đại trực tràng di căn gan cũng cho thấy việc điều trị bằng Adavosertib khiến tế bào có xu

hướng giảm mức độ di trú xuống khoảng 20% với liều dùng là 1 $\mu$ M [7]. Điều đặc biệt là đối với thí nghiệm đánh giá di trú tế bào, bộ số liệu của chúng tôi dừng lại tại thời điểm 20 giờ, điều này có nghĩa là tốc độ lành vết rạch trên giếng trong thời gian làm thí nghiệm gần như chỉ thể hiện ảnh hưởng của thuốc lên sự di trú của ung thư chứ không thể hiện ảnh hưởng lên sự tăng sinh của tế bào. Nghiên cứu của Kim và CS về ung thư dạ dày đã cho thấy, ở những dòng biểu hiện WEE1 ít (KATO III và SNU-668), khi được tăng cường biểu hiện của WEE1 thì chúng có khả năng tăng sinh và di trú cao hơn [8]. Cơ chế của hiện tượng này hiện chưa được làm rõ hoàn toàn nhưng có thể việc ức chế WEE1 sẽ khiến chu kỳ tế bào bị đẩy nhanh, dẫn tới sự hoạt hóa của rất nhiều protein liên quan tới phân bào như họ 14-3-3, PLK-1,... Hệ quả là sự rối loạn tổng hợp bộ khung xương tế bào cũng như các protein xuyên màng khiến tế bào không đạt mức di động như bình thường [8].

## KẾT LUẬN

Qua quá trình thực hiện nghiên cứu, chúng tôi đã chứng minh được tác dụng của chất ức chế WEE1 - Adavosertib (AZD1775) có tác dụng ức chế khả năng tăng sinh tế bào, tạo cụm tế bào và giảm khả năng di trú của dòng tế bào u

thần kinh đệm U-87MG trong điều kiện *in vitro*.

Các thí nghiệm cũng đã chỉ ra tác dụng của Adavosertib phụ thuộc vào liều lượng sử dụng, với liều lượng càng cao thì hiệu quả của thuốc càng lớn. Kết quả này cung cấp một số cơ sở về hiệu quả của thuốc cho những thử nghiệm tiếp theo trên thực nghiệm *in vivo* hoặc trên lâm sàng.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. National Brain Tumor Society. About Glioblastoma. *Natl Brain Tumor Soc*.

2. Music D, Dahlot RH, Hermansen SK, et al. Expression and prognostic value of the WEE1 kinase in gliomas. *J Neurooncol*. 2016; 127(2):381-389. DOI: 10.1007/s11060-015-2050-4.

3. Ghelli Luserna di Rorà A, Cerchione C, Martinelli G, Simonetti G. A WEE1 family business: Regulation of mitosis, cancer progression, and therapeutic target. *J Hematol Oncol* 2020; 13(1):126. DOI: 10.1186/s13045-020-00959-2.

4. Cetin MH, Rieckmann T, Hoffer K, et al. G2 checkpoint targeting via Wee1 inhibition radiosensitizes EGFRvIII-positive glioblastoma cells.

*Radiat Oncol*. 2023; 18(1):19. DOI: 10.1186/s13014-023-02210-x.

5. Roering P, Siddiqui A, Heuser VD, et al. Effects of Wee1 inhibitor adavosertib on patient-derived high-grade serous ovarian cancer cells are multiple and independent of homologous recombination status. *Front Oncol*. 2022; 12:954430. DOI: 10.3389/fonc.2022.954430.

6. Shuning Bi, Qiuren Wei, Zhijun Zhao, Liang Chen, Chaojie Wang, Songquang Xie. Wee1 Inhibitor AZD1775 Effectively inhibits the malignant phenotypes of esophageal squamous cell carcinoma *in vitro* and *in vivo*. *ResearchGate*. Published online August 2, 2019. DOI: 10.3389/fphar.2019.00864.

7. Webster PJ, Littlejohns AT, Gaunt HJ, et al. Upregulated WEE1 protects endothelial cells of colorectal cancer liver metastases. *Oncotarget*. 2017; 8(26):42288-42299. DOI: 10.18632/oncotarget.15039.

8. Kim HY, Cho Y, Kang H, et al. Targeting the WEE1 kinase as a molecular targeted therapy for gastric cancer. *Oncotarget*. 2016; 7(31):49902-49916. DOI: 10.18632/oncotarget.10231.