

ỨC CHẾ TĂNG SINH TẾ BÀO VÀ KHẢ NĂNG TẠO CỤM
TRÊN DÒNG UNG THƯ ĐẠI TRỰC TRÀNG CHUYỂN NẠP
hyper-IL-6 CỦA PROTEIN TÁI TỔ HỢP *sgp130Fc*

Nguyễn Như Ngọc^{1,2}, Nguyễn Thị Mai Ly³, Nghiêm Thị Minh Châu³
Nguyễn Linh Toàn^{1,4}, Bùi Khắc Cường^{1,5*}

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá hiệu quả kháng ung thư của dịch nuôi tế bào HEK được chuyển gene *sgp130FcH* có chứa protein *sgp130Fc* tái tổ hợp trên dòng tế bào ung thư đại trực tràng (UTĐTT) có tải nạp gene hyper-IL-6. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu được tiến hành *in vitro* trên dòng tế bào UTĐTT ở người là HT29 hyper-IL-6 và HCT116 hyper-IL-6 thông qua thử nghiệm WST-1, Crystal Violet. **Kết quả:** Sau 72 giờ xử lý, dịch nuôi từ tế bào HEK *sgp130FcH* có xu hướng làm giảm tỷ lệ sống của tế bào so với nhóm HEK WT và nhóm đối chứng nhưng mức giảm không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) và ức chế đáng kể sự hình thành cụm của các tế bào, đặc biệt mạnh ở dòng HCT116 hyper-IL-6 ($p < 0,001$). **Kết luận:** Protein tái tổ hợp *sgp130Fc* trong dịch nuôi cấy có tiềm năng ức chế quá trình tăng sinh và tác dụng rõ rệt trong việc làm giảm khả năng tạo cụm của tế bào ung thư của các dòng tế bào UTĐTT tăng cường interleukin-6 (IL-6) *in vitro*.

Từ khóa: Ung thư đại trực tràng; Dịch nuôi cấy chứa protein tái tổ hợp *sgp130Fc*; Ức chế; Tăng sinh tế bào; Khả năng tạo cụm; HT29 hyper-IL-6; HCT116 hyper-IL-6.

INHIBITION OF CELL PROLIFERATION AND COLONY-FORMING ABILITY
IN hyper-IL-6 GENE-TRANSDUCED COLORECTAL CANCER CELL LINES OF
RECOMBINANT *sgp130Fc* PROTEIN

Abstract

Objectives: To evaluate the anti-colorectal cancer effect of hyper-IL-6 gene-transduced cells using conditioned medium from *sgp130FcH*-transfected HEK cells

¹Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y

²Viện Ung bướu và Y học hạt nhân, Bệnh viện Quân y 175

³Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

⁴Phòng Sau đại học, Học viện Quân y

⁵Khoa Y học Thực nghiệm, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

*Tác giả liên hệ: Bùi Khắc Cường (buikhaccuong@gmail.com)

Ngày nhận bài: 03/12/2025

Ngày được chấp nhận đăng: 21/01/2026

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v51i2.1796>

containing recombinant *sgp130Fc* protein. **Methods:** The study was conducted *in vitro* on human colorectal cancer cell lines HT29 hyper-IL-6 and HCT116 hyper-IL-6 using WST-1 and Crystal Violet assay. **Results:** Conditioned medium from HEK *sgp130FcH* cells tended to reduce cell viability after 72 hours of treatment compared to HEK WT and control groups, although this decrease was not statistically significant ($p > 0.05$). However, it significantly inhibited colony formation, with the strongest effect observed in the HCT116 hyper-IL-6 line ($p < 0.001$). **Conclusion:** The recombinant *sgp130Fc* protein in the conditioned medium shows inhibitory effects on the proliferation and a pronounced reduction of colony-forming ability in IL-6-enhanced colorectal cancer cell lines *in vitro*.

Keywords: Colorectal cancer; Conditioned medium containing recombinant *sgp130Fc* protein; Inhibition; Cell proliferation; Colony formation; HT29 hyper-IL-6; HCT116 hyper-IL-6.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư đại trực tràng là một trong những loại ung thư phổ biến và có tỷ lệ tử vong cao trên toàn cầu. Theo thống kê của GLOBOCAN (2024), UTĐTT hiện đứng thứ ba về tỷ lệ mắc và thứ hai về tỷ lệ tử vong liên quan đến ung thư ở cả nam giới và nữ giới [1, 2]. Cơ chế bệnh sinh của UTĐTT rất phức tạp và đa dạng. Mặc dù các tiến bộ trong phẫu thuật, hóa trị và liệu pháp nhắm trúng đích đã cải thiện phần nào tiên lượng bệnh, tỷ lệ sống sau 5 năm vẫn chỉ xấp xỉ 14% [3].

Trong số các cytokine liên quan đến viêm và ung thư, IL-6 được xác định là một yếu tố quan trọng trong việc thúc đẩy quá trình sinh ung thư thông qua kích hoạt trực tiếp tín hiệu JAK/STAT3 [4]. Tín hiệu IL-6/STAT3 không chỉ điều hòa

quá trình tăng sinh, kháng lại quá trình chết tế bào (apoptosis) và thúc đẩy tân tạo mạch (angiogenesis) mà còn góp phần hình thành vi môi trường khối u thuận lợi cho sự tiến triển và di căn của ung thư [5]. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu đã cho thấy mức biểu hiện IL-6 trong huyết thanh và sự hoạt hóa STAT3 liên tục là những đặc điểm thường gặp ở các mẫu mô UTĐTT và có mối liên hệ với tiên lượng xấu [6].

Do đó, các chiến lược điều trị nhắm vào tín hiệu IL-6 đang được chú trọng [7]. Trong đó, protein *sgp130Fc* - một dạng tái tổ hợp của thụ thể *sgp130* hòa tan - đã được chứng minh có khả năng ức chế chọn lọc con đường chuyển tín hiệu của IL-6 thông qua việc “khóa” phức hợp IL-6/sIL-6R mà không ảnh hưởng đến

tín hiệu cổ điển của IL-6 [8]. Nghiên cứu này nhằm: *Đánh giá tác dụng kháng ung thư của sgp130Fc ở cấp độ in vitro, từ đó làm rõ tiềm năng ứng dụng sgp130Fc như một liệu pháp phân tử nhằm trúng đích mới trong điều trị UTĐTT.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu sử dụng dòng tế bào UTĐTT người là HT29 (HTB-38) và HCT116 (CCL-247) có nguồn gốc từ Ngân hàng chủng chuẩn Hoa Kỳ (American Type Culture Collection, Manassas, Virginia, USA) được lưu trữ tại Trung tâm Nghiên cứu Động vật Thực nghiệm, Học viện Quân y. Các tế bào này được chuyển nạp với plasmid hyper-IL-6 để tạo dòng UTĐTT tăng cường biểu hiện con đường chuyển tín hiệu IL-6.

2. Phương pháp nghiên cứu

* Thử nghiệm WST-1:

Tế bào HT29 hyper-IL-6 và HCT116 hyper-IL-6 được gieo trên đĩa 96 giếng ở mật độ 2.500 tế bào/giếng và được ủ qua đêm trước khi xử lý môi trường nuôi cấy DMEM (11965118, Gibco, USA) (nhóm đối chứng) và dịch nuôi cấy HEK *sgp130FcH* hoặc HEK WT theo tỷ lệ 50% hoặc 70%. Thay dịch nuôi cấy hằng ngày (24 giờ). Sau 72 giờ, tế bào được ủ với WST-1 (ab65475, Abcam) 2,5% ở 37°C, 5% CO₂ trong 2 giờ. Giá trị độ hấp thụ được xác định ở bước sóng 450nm với bước sóng tham chiếu 620nm bằng máy đo quang phổ (Tecan, Thụy Sĩ). Tỷ lệ tế bào sống ở nhóm điều trị được so sánh với nhóm đối chứng theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ tế bào sống (\%)} = \frac{\text{Độ hấp thụ nhóm điều trị}}{\text{Độ hấp thụ nhóm đối chứng}} \times 100\%$$

Dịch nuôi cấy từ tế bào HEK WT và HEK *sgp130FcH* (tế bào HEK 293 đã chuyển nạp plasmid *sgp130FcH* để mang gene tổng hợp protein *sgp130* tái tổ hợp) dùng cho các thí nghiệm: Dòng tế bào HEK WT và HEK *sgp130FcH* được nuôi trong môi trường DMEM (11965118, Gibco, USA) không có blasticidin trong ít nhất 2 tuần. Tế bào được gieo vào các đĩa T75 với cùng mật độ ban đầu (6×10^6 tế bào/dĩa). Khi mật độ tế bào đạt 80% (sau 72 giờ), môi trường nuôi cấy được thu thập và ly tâm ở tốc độ 8000 vòng/phút trong 3 phút để loại bỏ các mảnh vụn tế bào. Dịch nuôi HEK *sgp130FcH* đã được khẳng định có chứa protein *sgp130Fc* bằng thử nghiệm ELISA và Western blot (số liệu không trình bày). Các tế bào được xử lý môi trường nuôi cấy DMEM và dịch nuôi cấy HEK *sgp130FcH* hoặc HEK WT theo tỷ lệ 50% hoặc 70% dịch nuôi cấy.

** Thử nghiệm Crystal Violet:*

Tế bào HT29 hyper-IL-6 và HCT116 hyper-IL-6 được gieo trên đĩa 12 giếng ở mật độ 1.500 tế bào/giếng và ủ qua đêm trước khi được xử lý bằng môi trường nuôi cấy DMEM và dịch nuôi cấy HEK *sgp130FcH* hoặc HEK WT theo tỷ lệ 50%. Nhóm đối chứng được xử lý với môi trường DMEM nuôi cấy tế bào. Thay dịch nuôi cấy 3 ngày/lần. Quá trình xử lý kết thúc khi có giếng đạt mật độ tế bào 80% bề mặt. Sau đó, tế bào được nhuộm với Crystal Violet 1% (61135-25G, Sigma) và rửa 3 lần với PBS (Gibco, USA). Hình ảnh cụm tế bào sẽ được chụp và phân tích trên phần mềm ImageJ (University of Wisconsin, USA).

** Xử lý số liệu:*

Số liệu được xử lý thống kê bằng phần mềm GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Kết quả được thể hiện dưới dạng $\bar{X} \pm SD$. So sánh giữa các nhóm được thực hiện bằng kiểm định One-way ANOVA trong thử nghiệm WST-1 và thử nghiệm Crystal Violet. Sự khác biệt của từng nhóm điều trị so với nhóm đối chứng được kiểm tra bằng hậu kiểm Tukey. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được xác định với $p < 0,05$.

2. Đạo đức nghiên cứu

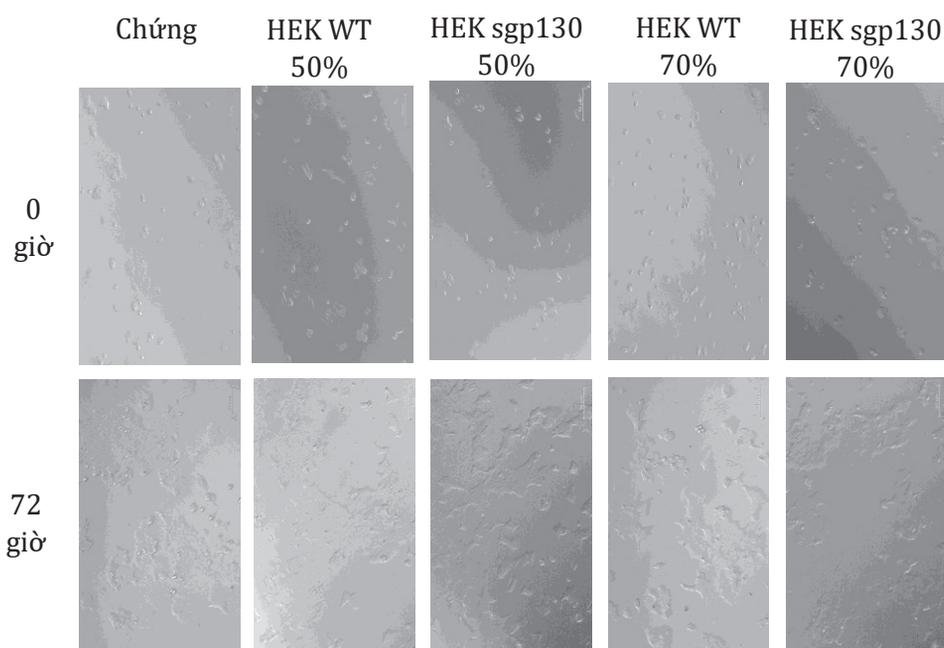
Nghiên cứu được thông qua Hội Đồng Y đức của Học viện Quân y theo Quyết

định số 424/QĐ-HVQY ngày 08/02/2022. Số liệu nghiên cứu được 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.

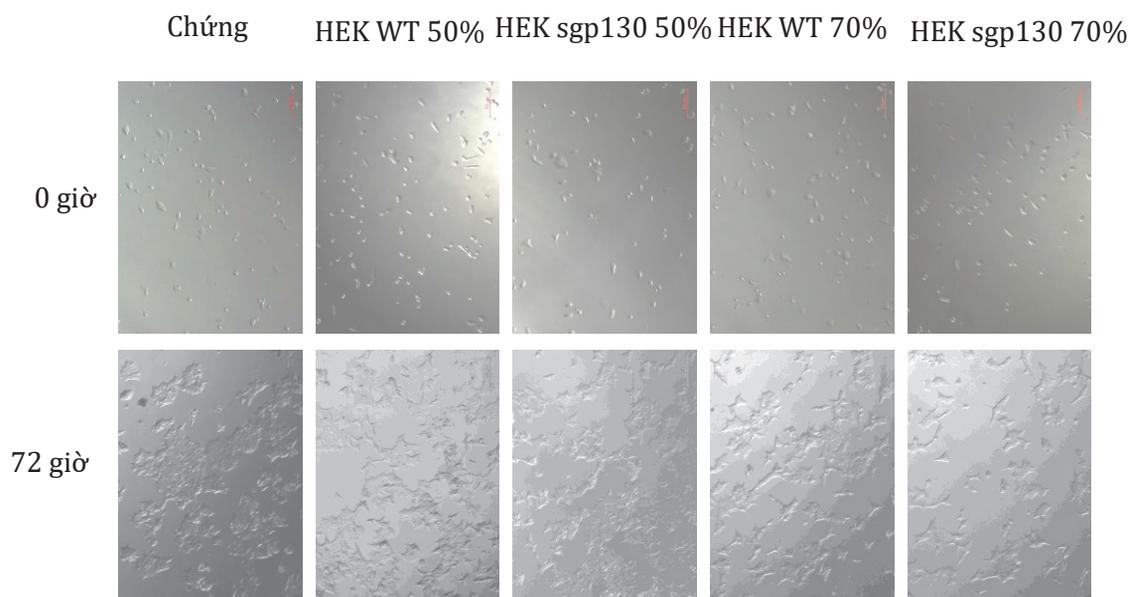
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Thử nghiệm đáp ứng liều bằng WST-1

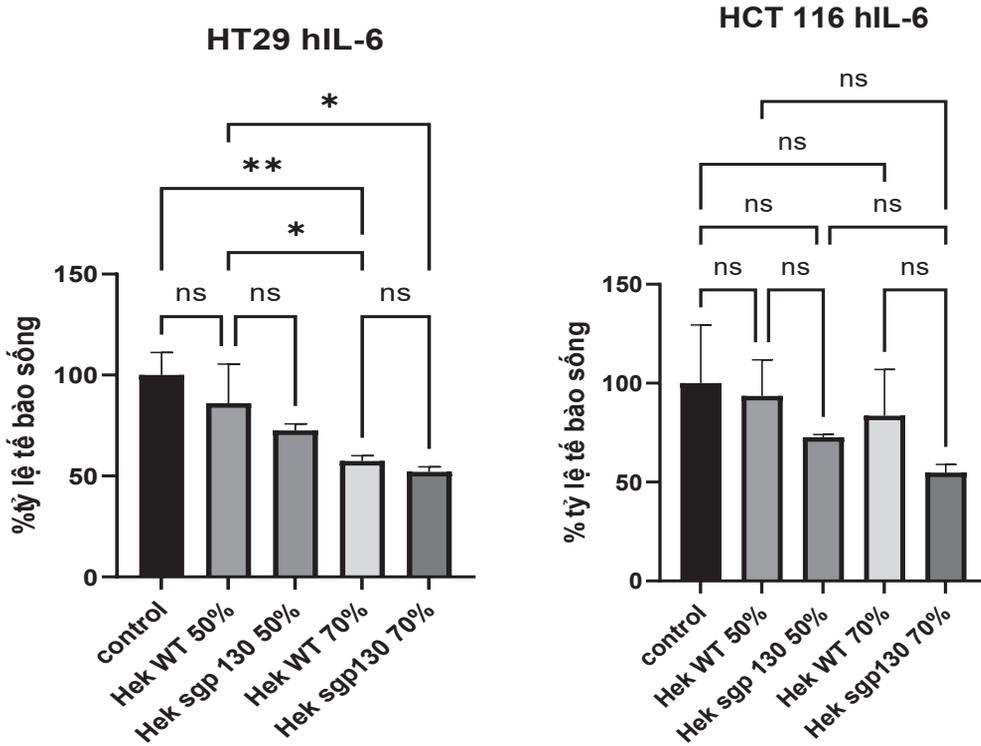
Thử nghiệm WST-1 được tiến hành để đánh giá tác động của dịch nuôi HEK *sgp130FcH* lên quá trình tăng sinh tế bào UTĐTT chuyển nạp hyper-IL-6 so với HEK WT và nhóm chứng. Sau 72 giờ xử lý và quan sát trên kính hiển vi, cho thấy tỷ lệ sống của tế bào UTĐTT HT29 hyper-IL-6 có xu hướng giảm nhẹ so với nhóm chứng và nhóm HEK WT (*Hình 1*). Phân tích biểu đồ cho thấy mật độ quang giảm rõ rệt so với nhóm chứng ($p < 0,01$) ở nồng độ 70% dịch nuôi cấy và xu hướng giảm nhẹ khi so sánh với nhóm HEK WT với $p > 0,05$ (*Hình 3*). Dòng HCT116 hyper-IL-6 có xu hướng giảm nhẹ ở nhóm được xử lý bằng dịch nuôi HEK *sgp130FcH* so với nhóm xử lý bằng HEK WT và nhóm chứng cả khi quan sát trên kính hiển vi (*Hình 2*) và phân tích trên biểu đồ (*Hình 3*). Điều này gợi ý protein tái tổ hợp *sgp130Fc* trong dịch nuôi có khả năng ức chế nhẹ lên hai dòng tế bào UTĐTT dù không có ý nghĩa thống kê



Hình 1. Dịch nuôi cấy HEK *sgp130Fc* có xu hướng ức chế khả năng tăng sinh tế bào của dòng tế bào HT29 hyper-IL-6 so với dòng HEK WT trong thử nghiệm WST-1 qua quan sát trên kính hiển vi (vật kính 10x), thang tỷ lệ 50µm.



Hình 2. Dịch nuôi cấy HEK *sgp130Fc* có xu hướng ức chế khả năng tăng sinh tế bào của dòng tế bào HCT116 hyper-IL-6 so với dòng HEK WT trong thử nghiệm WST-1 qua quan sát trên kính hiển vi (vật kính 10x), thang tỷ lệ 50µm.



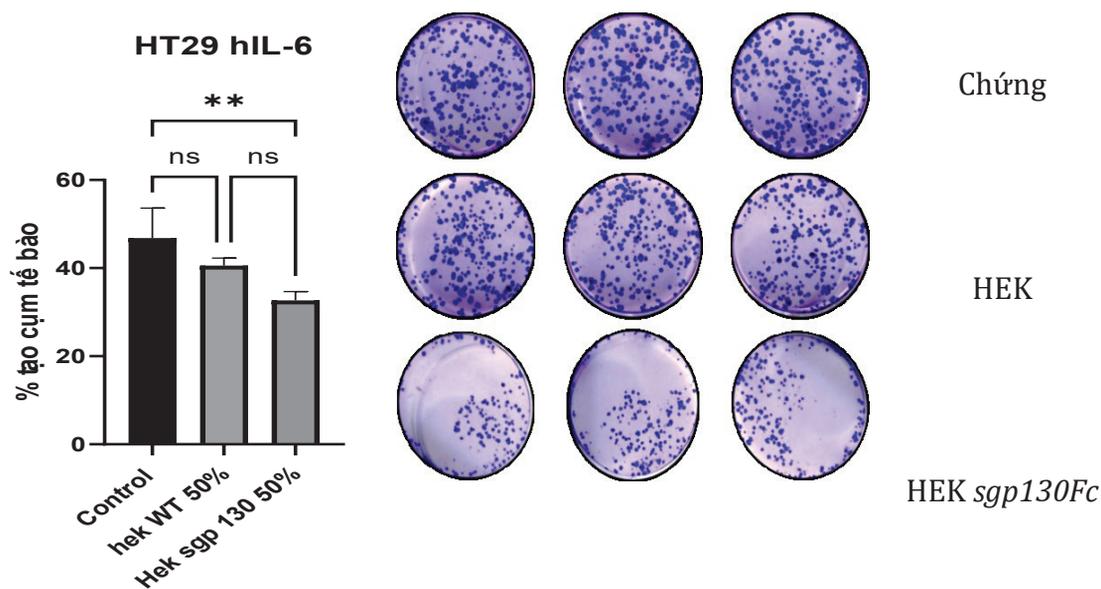
Hình 3. Xu hướng ức chế khả năng tăng sinh tế bào của dịch nuôi HEK *sgp130Fc* trên dòng tế bào HT29 hyper-IL-6 và HCT116 hyper-IL-6 so với dòng HEK WT trong thử nghiệm WST-1.

(Kiểm định One-way ANOVA; ns: $p > 0,05$; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$)

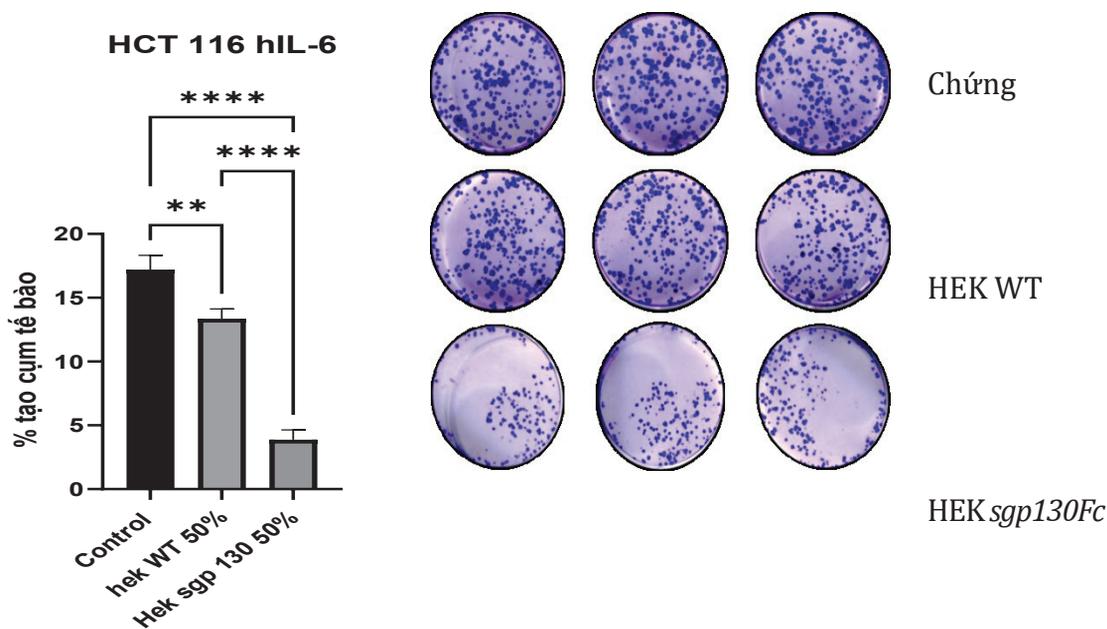
2. Thử nghiệm Crystal Violet

Kết quả cho thấy sự giảm đáng kể sự hình thành cụm tế bào của các tế bào được xử lý bằng dịch nuôi HEK *sgp130FcH* và các tế bào được xử lý bằng dịch nuôi HEK WT trên cả dòng tế bào HT29 hyper-IL-6 với $p < 0,05$ (Hình 4) và HCT116 hyper-IL-6 với $p < 0,01$ (Hình 5) so với nhóm đối chứng là MTNC DMEM khi nhuộm màu với Crystal Violet sau 2 tuần thí nghiệm.

Tuy nhiên, với dòng tế bào HT29 hyper-IL-6, mặc dù có xu hướng giảm rõ khi so sánh nhóm được xử lý bằng dịch nuôi cấy HEK *sgp130FcH* và nhóm được xử lý bằng dịch nuôi cấy HEK WT nhưng kết quả này không có ý nghĩa thống kê (Hình 4). Khác với dòng tế bào HCT116 hyper-IL-6, sự ức chế tạo cụm của dịch nuôi cấy HEK *sgp130FcH* rất rõ ràng khi so với nhóm dịch nuôi cấy HEK WT với $p < 0,001$ (Hình 5).



Hình 4. So sánh khả năng tạo cụm tế bào của dòng tế bào HT29 hyper-IL-6 so với dòng HEK WT và nhóm chứng trong thử nghiệm Crystal Violet. (Kiểm định One-way ANOVA; ns: $p > 0,05$; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$)



Hình 5. Dịch nuôi cấy HEK *sgp130Fc* ức chế khả năng ức cụm tế bào của dòng tế bào HCT116 hyper-IL-6 so với dòng HEK WT trong thử nghiệm Crystal Violet. (Kiểm định One-way ANOVA; ns: $p > 0,05$; *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$)

BÀN LUẬN

Thông qua thử nghiệm WST-1, chúng tôi nhận thấy tác động của protein tái tổ hợp lên dòng tế bào HT29 hyper-IL-6 và HCT116 hyper-IL-6 có xu hướng ức chế tăng sinh nhẹ trên hai dòng tế bào ung thư. Tuy nhiên, kết quả này không có ý nghĩa thống kê, điều này có thể do nồng độ protein trong dịch nuôi vẫn còn thấp nên phải thay môi trường trong 24 giờ. Bên cạnh đó, thành phần dịch nuôi cũng có nhiều yếu tố khác như dinh dưỡng ảnh hưởng, làm kết quả có sai số lớn và vấn đề kỹ thuật có thể gây bong tế bào trong quá trình thay môi trường 24 giờ. Xu hướng ức chế này cũng phù hợp với một số nghiên cứu về ức chế ung thư của các dòng tế bào khác như ung thư gan trong nghiên cứu của Jin Hong và CS [9].

Kết quả thí nghiệm hình thành cụm tế bào cho thấy dịch nuôi cấy từ tế bào HEK *sgp130FcH* có khả năng ức chế tạo cụm của các dòng tế bào UTĐTT tăng cường IL-6 (HT29 hyper-IL-6 và HCT116-hyper IL-6). So với nhóm đối chứng (DMEM), xử lý bằng dịch nuôi cấy HEK *sgp130FcH* và HEK WT đều làm giảm đáng kể số lượng cụm hình thành sau hai tuần nhuộm Crystal Violet. Mức độ ức chế giữa hai dòng tế bào có sự khác biệt. Ở dòng HT29 hyper-IL-6, dịch nuôi cấy HEK *sgp130FcH* cho thấy xu hướng giảm mạnh hơn so với HEK WT nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Điều này có thể phản ánh sự phụ thuộc con đường chuyển tín hiệu của IL-6 khác nhau giữa

các dòng tế bào hoặc cơ chế bù trừ tín hiệu tăng sinh của HT29 mạnh hơn so với HCT116. Ngược lại, dòng HCT116 hyper-IL-6 thể hiện sự đáp ứng rất rõ rệt: Dịch nuôi cấy HEK *sgp130FcH* ức chế tạo cụm vượt trội so với dịch nuôi cấy HEK WT. Kết quả này chứng minh rằng HCT116 hyper-IL-6 có thể phụ thuộc mạnh hơn vào trục IL-6/JAK/STAT3 trong việc duy trì khả năng sống sót, kết dính và hình thành cấu trúc cụm.

Hiệu quả ức chế này phù hợp với cơ chế sinh học đã được ghi nhận của *sgp130*, vốn là chất ức chế tự nhiên của con đường tín hiệu IL-6 trans-signaling [7]. Ở các tế bào tăng biểu hiện hyper-IL-6, IL-6 liên tục hoạt hóa trục JAK/STAT3 thúc đẩy quá trình tăng sinh, sống sót và xâm lấn [10]. Việc bổ sung *sgp130Fc* từ môi trường nuôi cấy có thể trung hòa hyper-IL-6 ngoại bào, từ đó làm giảm mức độ hoạt hóa STAT3 và suy giảm khả năng hình thành cụm. Điều này củng cố thêm tiềm năng của *sgp130Fc* như một yếu tố điều hòa sinh học, có thể được ứng dụng trong chiến lược điều trị nhắm trúng đích IL-6. Trong quá trình tiến hành thí nghiệm, hiện tượng bong tế bào được ghi nhận ở một số giếng, đặc biệt trong giai đoạn thay môi trường nuôi cấy. Hiện tượng này có thể bắt nguồn từ nhiều yếu tố như tác động sinh học của *sgp130Fc* gây thay đổi tín hiệu sống sót và kết dính (adhesion), làm tế bào yếu đi và dễ bong; thao tác thay môi trường hoặc sự thay đổi đột ngột về thành phần dinh dưỡng gây stress tạm thời.

Kết quả định tính và định lượng cuối cùng vẫn cho thấy xu hướng nhất quán: Dịch nuôi HEK *sgp130FcH* gây ức chế mạnh sự hình thành cụm, cho thấy ảnh hưởng này không phải do sai số thao tác mà phản ánh tác động sinh học thực sự của *sgp130Fc*.

KẾT LUẬN

Protein tái tổ hợp *sgp130Fc* trong dịch nuôi cấy có tiềm năng ức chế quá trình tăng sinh của các dòng tế bào UTĐTT tăng cường IL-6 trong điều kiện *in vitro*. Kết quả tổng thể cho thấy protein *sgp130Fc* tiết ra từ tế bào HEK có tác dụng giảm rõ rệt khả năng tạo cụm của tế bào UTĐTT HCT116 hyper-IL-6 *in vitro*.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu được tài trợ bởi Quỹ đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF) trong Dự án mã số VINIF.2021.DA00199.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Siegel RL, Giaquinto AN, Jemal A. Cancer statistics 2024. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2024; 74(1):12-49.
2. Hossain MS, Karuniawati H, Jairoun AA, et al. Colorectal cancer: A review of carcinogenesis, global epidemiology, current challenges, risk factors, preventive and treatment strategies. *Cancers*. 2022; 14(7):1732.
3. Shin AE, Giancotti FG, Rustgi AK. Metastatic colorectal cancer: Mechanisms and emerging therapeutics. *Trends in*

Pharmacological Sciences. 2023; 44(4): 222-236.

4. Huang B, Lang X, Li X. The role of IL-6/JAK2/STAT3 signaling pathway in cancers. *Frontiers in Oncology*. 2022; 12.

5. Chonov DC, Ignatova MMK, Ananiev JR, Gulubova MV. IL-6 Activities in the tumour microenvironment. Part 1. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2019; 7(14):2391-2398.

6. Okugawa Y, Miki C, Toiyama Y, et al. Loss of tumoral expression of soluble IL-6 receptor is associated with disease progression in colorectal cancer. *British Journal of Cancer*. 2010; 103(6):787-795.

7. Rose-John S, Jenkins BJ, Garbers C, et al. Targeting IL-6 trans-signalling: Past, present and future prospects. *Nature Reviews Immunology*. 2023; 23(10):666-681.

8. Bonomi A, Veglia F, Baldassarre D, et al. Analysis of the genetic variants associated with circulating levels of *sgp130*. Results from the IMPROVE study. *Genes & Immunity*. 2010; 21(2):100-108.

9. Hong J, Wang H, Shen G, et al. Recombinant soluble *sgp130* protein reduces DEN-induced primary hepatocellular carcinoma in mice. *Sci Rep*. 2016; 6:24397.

10. Lin Y, He Z, Ye J, et al. Progress in Understanding the IL-6/STAT3 Pathway in colorectal cancer. *OncoTargets and Therapy*. 2020; 13:13023-13032.