

50355201: MAJOR: BIOPHARMACEUTICAL SCIENCES

KEY WORDS: ADIPOSE DIFFERENTIATION-RELATED PROTEIN / HEPATIC INSULIN RESISTANCE / PHOSPHATIDYLINOSITOL-3 KINASE / PROTEIN KINASE B

SIRIPUN TIPLUECHAR: EFFECT OF ADIPOSE DIFFERENTIATION-RELATED PROTEIN ON CELL PROLIFERATION AND SURVIVAL VIA INSULIN SIGNALING PATHWAY IN HUH7 CELLS. THESIS ADVISORS: ASST.PROF.WISIT TANGKEANGSIRISIN, Ph.D., 60 pp.

Adipose differentiation-related protein (ADRP) regulates triglyceride turnover in hepatocytes and its expression level increases in hepatic steatosis. It has been demonstrated that triglyceride (TG) accumulation in hepatocytes is a causative factor on the development of hepatic insulin resistance. The objectives of this study are to investigate the effect of ADRP on hepatic insulin responsiveness in cells proliferation, survival, extracellular signal-regulated kinases (ERK), and product of the akt protooncogene (AKT) phosphorylation in human hepatoma Huh7 cell line. ADRP expression in Huh7 cells were stably downregulated with short hairpin siRNA. The ADRP protein expression of stable knockdown cells was reduced by approximately 40% compared to control cells. Cell proliferation and survival of these cells were three fold better than Control cells to in medium supplemented with 1% charcoal-stripped fetal bovine serum (CHX-FBS) and two fold in serum-free medium (SFM). Moreover, insulin increases cell viability in ADRP downregulated cells. In addition, insulin-induced AKT phosphorylation of these cells was increased by approximately 2-fold compared to control cells, but no difference of insulin-induced ERK phosphorylation between the two cells. These results suggested that ADRP downregulation increased cell proliferation and survival via phosphatidylinositide-3 kinase (PI3K) cascade, in our model. These findings imply that regulation of ADRP could be a therapeutic target on insulin resistance, metabolic syndromes and cardiovascular diseases.

Program of Biopharmaceutical Sciences Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2011

Student's signature

Thesis advisors' signature

50355202 : สาขาวิชาเภสัชชีวภาพ

คำสำคัญ : ADIPOSE DIFFERENTIATION-RELATED PROTEIN / ภาวะต้านต่ออินซูลิน /
ความอ้วน / PHOPHATIDYLINOSITOL-3 KINASE / PROTEIN KINASE B

ศิริบูรณ์ ทิปถ้อชา : ผลของ adipose differentiation - related protein ต่อการเพิ่มจำนวน
และรอดชีวิตของเซลล์ผ่านวิธีการนำส่งกระแสสัญญาณอินซูลินในเซลล์เพาะเลี้ยง Huh7. อาจารย์ที่
ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ภก. ผศ. ดร. วิสิฐ ตั้งเคียงศิริสิน. 60 หน้า.

Adipose differentiation-related protein (ADRP) เป็นโปรตีนที่ควบคุมปริมาณไตรกลีเซอไรด์ในเซลล์ตับและพบว่าโปรตีนดังกล่าวมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นในโรคไขมันคั่งในตับ ผลการวิจัยพบว่าในเซลล์ตับที่มีการสะสมไตรกลีเซอไรด์จะทำให้เกิดภาวะต้านอินซูลินได้ งานวิจัยฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ adipose differentiation-related protein (ADRP) ต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์และการรอดชีวิตของเซลล์ รวมทั้งการทำงานของ extracellular signal-regulated kinases (ERK) และ product of the *akt* protooncogene (AKT) ในเซลล์ตับเพาะเลี้ยง Huh7 โดยการนำเซลล์ Huh7 มาทำให้โปรตีน ADRP ลดลงด้วย short hairpin siRNA พบว่าเซลล์ดังกล่าวมีการสร้างโปรตีน ADRP ลดลงประมาณ 40% เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติ และเมื่อเลี้ยงเซลล์ที่มีปริมาณ ADRP ลดลงในอาหารทั้ง 2 แบบคือ 1% charcoal-stripped fetal bovine serum (CHX-FBS) และ serum-free medium (SFM) พบว่ามีการเพิ่มจำนวนและรอดชีวิตของเซลล์ดีกว่าเซลล์ปกติเป็นจำนวนสามเท่าและสองเท่าตามลำดับ นอกจากนี้อินซูลินสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ในเซลล์ที่มีปริมาณ ADRP ลดลง นอกจากนี้การศึกษาในระดับโมเลกุลพบว่าเซลล์ Huh7 ที่มีการสร้าง ADRP ต่ำมีการกระตุ้น AKT ด้วยอินซูลินมากกว่าเซลล์ปกติ 2 เท่า แต่ไม่พบความแตกต่างในการกระตุ้น ERK ด้วยอินซูลินระหว่างเซลล์ทั้งสองชนิด ดังนั้นการลดลงของ ADRP จึงทำให้เซลล์มีการเพิ่มจำนวนและการรอดชีวิตผ่าน phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) ในการศึกษาี้ จากผลการทดลองนี้สามารถกล่าวได้ว่าการควบคุมปริมาณ ADRP สามารถเป็นเป้าหมายในการรักษาภาวะต้านอินซูลิน กลุ่มอาการเมตาบอลิกและโรคหลอดเลือดหัวใจได้

สาขาวิชาเภสัชศาสตร์ชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2554

ลายมือชื่อนักศึกษา

.....

รายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

.....

ACKNOWLEDGEMENTS

This thesis could not be accomplished without the great support by my graduate advisors, Asst. Prof. Dr. Wisit Tangkeangsirisin. I would like to present my sincere gratitude to the member of thesis committee, Asst. Prof. Dr. Siripan Limsirichaikul, Dr. Piyanuch Jongsamak, Dr. Krit Thirapanmethee, and Dr. Perayot Pamonsinlapatham who devoted their time to suggest me to write this report. Without their guidance and reviews, this thesis cannot complete. I always keep in mind about people who gave me knowledge and many tools. This thesis has been finished because of many helps from laboratory members, Miss Sirikul Dangmanee, Mr. Tharatree Srichan and Miss Arporn Kaeopardtana.

