

indicated that Cbl-b would rather act through the post-translational modifications of Runx2 protein. These data propose, for the first time, the involvement of Cbl-b in regulation of osteoblast-related gene product, Runx2. However the possible mechanisms are yet to be evaluated.

บทคัดย่อ

230050

ซีบีแอล-บีเป็นสมาชิกตัวหนึ่งในกลุ่มเอนไซม์อีทรียูบิควิตินไลเกส (E3 ubiquitin ligase) นอกเหนือไปจากการทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการย่อยสลายโปรตีนด้วยกระบวนการยูบิควิตินแล้ว มีการศึกษาหลายชิ้นที่แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ในกลุ่มอีทรียูบิควิตินไลเกสมีส่วนร่วมในการควบคุมการเจริญและพัฒนาของเซลล์สร้างกระดูก อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีการศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของซีบีแอล-บี (Cbl-b) ในการควบคุมการทำงานของเซลล์สร้างกระดูกมาก่อน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของซีบีแอล-บีในการควบคุมการทำงานของจิ้นรันเอกซ์ทู (Runx2) ซึ่งเป็นจิ้นหลักที่ควบคุมกระบวนการเจริญและพัฒนาของกระดูก โดยทำการเพิ่มจำนวนซีบีแอล-บีและจิ้นรันเอกซ์ทูในเซลล์ไลน์ของเซลล์สร้างกระดูกจากนั้นวัดระดับการทำงานของออสติโอแคลซินโปรโมเตอร์และระดับการแสดงออกของจิ้นรันเอกซ์ทู จากผลของล็กซีเฟอร์เรสแอสเสแสดงให้เห็นว่าเมื่อซีบีแอล-บีและจิ้นรันเอกซ์ทูนั้นถูกเหนี่ยวนำเข้าเซลล์ไลน์ของเซลล์สร้างกระดูกพร้อมกัน ซีบีแอล-บีนั้นสามารถส่งเสริมการทำงานของจิ้นรันเอกซ์ทูในการกระตุ้นออสติโอแคลซินโปรโมเตอร์ให้มากขึ้น นอกจากนี้การเหนี่ยวนำซีบีแอล-บีและจิ้นรันเอกซ์ทูเข้าเซลล์พร้อมกันยังช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนของจิ้นรันเอกซ์ทู แต่อย่างไรก็ตามซีบีแอล-บีไม่ได้เพิ่มการแสดงออกของจิ้นรันเอกซ์ทูเมสเซนเจอร์อาร์เอ็นเอ การเพิ่มขึ้นของโปรตีนจิ้นรันเอกซ์ทูโดยซีบีแอล-บีสามารถถูกยับยั้งโดยการยับยั้งการทำงานของ 26 เอส โปรตีเอสด้วยแล็คตาซีสทิน (lactacystin) จากการวิเคราะห์โดยอิมมูโนพรีซิพิเทชันแอสเสพบวว่าซีบีแอล-บีนั้นไม่จับโดยตรงกับจิ้นรันเอกซ์ทู จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าซีบีแอล-บีน่าจะทำการปรับเปลี่ยนจิ้นรันเอกซ์ทูภายหลังจากที่จิ้นรันเอกซ์ทูนั้นถูกสร้างเป็นโปรตีนแล้ว (post-translational modifications) ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นเป็นครั้งแรกว่าซีบีแอล-บีนั้นมีส่วนร่วมในการควบคุมการแสดงออกและการทำงานของจิ้นรันเอกซ์ทู อย่างไรก็ตามบทบาทของซีบีแอล-บีต่อการเจริญและพัฒนาของเซลล์สร้างกระดูกยังคงต้องมีการศึกษาต่อไป

Cbl-b is a member of Cbl family of E3 ubiquitin (Ub) ligase. Beside the important role in ubiquitination process, several studies demonstrated the role of some E3 Ub ligases in regulation of osteoblastic differentiation. However, the involvement of Cbl-b in regulation of osteoblastic function has not been reported yet. To elucidate the role of Cbl-b in regulation of Runx2, a master gene of osteoblastic differentiation, we overexpressed Cbl-b and Runx2 in osteoblastic cell lines and observed the osteocalcin promoter activity together with the expression of Runx2. The luciferase assay demonstrated that Cbl-b has synergistic effect with Runx2 function on osteocalcin promoter activity when they are co-transfected into osteoblasts. Cbl-b, co-transfected with Runx2, also upregulated Runx2 protein levels but did not alter Runx2 mRNA expression. The up-regulation of Runx2 protein by Cbl-b was inhibited by treatment with lactacystin, a specific inhibitor of the 26S proteasome. Immuno-precipitation assay indicated that there was no direct interaction between Cbl-b and Runx2. These results