

190914

แบบ วจ04(5)

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



190914

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การควบคุมแบบเฉียบพลันของโปรตีนขนส่งประจุบวกชนิดที่ 2 โดยเทสโทสเตอโรน

Acute Regulation of Organic Cation Transporter 2 by Testosterone

คณะผู้วิจัย

ปารณีย์ มีแต้ม

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2552

600255947

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



190914

แบบ วจ04(5)

## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การควบคุมแบบเฉียบพลันของโปรตีนขนส่งประจุบวกชนิดที่ 2 โดยเทสโทสเตอโรน

Acute Regulation of Organic Cation Transporter 2 by Testosterone



คณะผู้วิจัย

ปารณีย์ มีแต้ม

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2552

## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

### ชื่อโครงการวิจัย

การควบคุมแบบเฉียบพลันของโปรตีนขนส่งประจุบวกชนิดที่ 2 โดยเทสโทสเตอโรน

Acute Regulation of Organic Cation Transporter 2 by Testosterone

บทคัดย่อ

190914

โปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุบวกชนิดที่ 2 (Organic cation transporter 2, OCT2) ทำหน้าที่ขนส่งสารอินทรีย์ประจุบวกเข้าสู่ท่อไตฝอยส่วนต้นเพื่อการขับทิ้ง แม้มีรายงานว่าเทสโทสเตอโรนมีบทบาทในการควบคุมการแสดงออกและการทำงานของ OCT2 แต่ยังไม่มียางานถึงการควบคุมเฉียบพลันของเทสโทสเตอโรนที่มีต่อ OCT2 การทดลองนี้ศึกษาถึงผลเฉียบพลันที่ไม่ขึ้นกับกระบวนการสร้างโปรตีนของเทสโทสเตอโรนที่มีต่อ OCT2 โดยทำการศึกษาการขนส่ง [ $^3$ H]-Tetraethylammonium ( $^3$ H)-TEA) เข้าสู่เซลล์โดยใช้โปรตีนขนส่งสารอินทรีย์ประจุบวกของกระต่าย (rbOCT2) ที่มีการแสดงออกอย่างถาวรใน Chinese hamster ovary cells (CHO-K1) พบว่าเมื่อ incubate เทสโทสเตอโรน 10 และ 100  $\mu$ M เป็นเวลา 10 นาที ให้ผลลดการขนส่ง  $^3$ H-TEA เข้าสู่เซลล์อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าการขนส่ง 73.57, 60.45 % ของกลุ่มควบคุมตามลำดับ ผลยับยั้งดังกล่าวยังพบได้ในกรณีที่ใช้เทสโทสเตอโรนร่วมกับ actinomycin D ซึ่งเป็นสารที่มีผลยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน นอกจากนั้นการใช้ testosterone BSA ซึ่งไม่สามารถผ่านเข้าเซลล์ได้สามารถยับยั้งการทำงานของ OCT2 ได้ ข้อมูลเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าผลการยับยั้งที่เกิดขึ้นเกิดจากการออกฤทธิ์เฉียบพลัน จากการศึกษาก่อนพบศาสตร์พบว่าเทสโทสเตอโรนลดการขนส่งโดยมีผลเปลี่ยนแปลง affinity โดยไม่เปลี่ยนแปลงจำนวนของโปรตีนขนส่ง ในการตรวจสอบระบบการส่งสัญญาณเบื้องต้นโดยใช้เทสโทสเตอโรนร่วมกับ wortmannin (PI3K inhibitor) พบว่ายังมีผลลดการขนส่งของ [ $^3$ H]-TEA โดยสรุปการศึกษาครั้งนี้แสดงถึงผลการควบคุมอย่างเฉียบพลันของเทสโทสเตอโรนที่มีผลลดการทำงาน OCT2 โดยลด affinity ของ OCT2 และผลดังกล่าวไม่เกิดผ่าน PI3K

## Abstract

190914

Organic cation transporter 2 (OCT2) mediates an entry step of cationic substances into renal proximal epithelial cell for further excretion. Although testosterone has been shown to regulate the expression and function of OCT2, there is no data about the acute regulation of testosterone on OCT2. The present study examined the acute effect of testosterone on the protein synthesis-independent process on OCT2 transport as determined by [<sup>3</sup>H]-Tetraethylammonium ([<sup>3</sup>H]-TEA) transport activity in Chinese hamster ovary (CHO-K1) cells stably transfected with rabbit OCT2 [(rb)OCT2]. Incubation of 10 and 100 μM testosterone for 10 minutes significantly reduced [<sup>3</sup>H]-TEA uptake to 73.57, 60.45 % of the control respectively. The inhibitory effect of testosterone was not attenuated by actinomycin D, a protein synthesis inhibitor. Moreover, impermeant testosterone-BSA significantly inhibited the OCT2 function. These data indicated that the inhibitory process observed was actually mediated by acute effect pathways. From the kinetics analysis, testosterone decreased [<sup>3</sup>H]-TEA uptakes through a reduction of affinity but had no effect on the number of transporters. The signaling study by treatment of rbOCT2 with testosterone and wortmannin (PI3K inhibitor) also reduced the uptake of [<sup>3</sup>H]-TEA. Taken together, these data show that acute effect of testosterone was to reduce the activity of OCT2 by decreasing the affinity of the transporter, which is likely to be mediated through PI3K-independent pathway.

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
บทที่ 1 บทนำ	4
บทที่ 2 วิธีวิจัย	11
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและวิจารณ์ผล	15
บทที่ 4 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	20
บทที่ 5 เอกสารอ้างอิง	22
ภาคผนวก	25

- Waymouth Buffer