Myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) เป็นสับสเตรตของ protein kinase C (PKC) ซึ่งเป็นโปรตีนที่คาดว่าเกี่ยวข้องกับกระบวนการยึดเกาะของเซลล์ การหลั่งสารออกนอกเซลล์ และการเคลื่อนที่ของเซลล์โดยไปควบคุมการทำงานของโปรตีนแอคทิน การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าโปรตีน MARCKS มีการแสดงออกของระดับ mRNA ที่สูงในเนื้อเยื่อตับของหนูแฮมสเตอร์ที่ถูกชักนำโดยพยาธิใบไม้ตับและสารก่อมะเร็ง NDMA ให้เป็นมะเร็งท่อน้ำดี ซึ่งใช้เทคนิค SYBR Green real time PCR และ mRNA in situ hybridization ในการตรวจวิเคราะห์ การศึกษาครั้งนี้ต้องการพิสูจน์ว่าโปรตีน MARCKS มีบทบาทในการทำงานของเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีในผู้ป่วยโดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีชนิด KKU-M156 มาทำการเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของโปรตีนที่สูงมากภายในเซลล์ด้วยวิธี stable transfection techniques ซึ่งอาศัยพาหะที่เป็น retroviral vector พาชิ้นส่วน cDNA ของ MARCKS เข้าไปเชื่อมต่อกับโครโมโซมของเซลล์ เมื่อใช้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์ ตรวจสอบระดับโปรตีน MARCKS พบว่าภายในเซลล์มะเร็งมีโปรตีนเป็นปริมาณมาก เมื่อใช้สาร TPA กระตุ้นการทำงานของ PKC พบว่าที่เวลา 15 นาทีสามารถกระตุ้นให้มีปริมาณของ phosphorylated MARCKS (p-MARCKS) ได้เพิ่มขึ้น เมื่อตรวจสอบการยึดเกาะของเซลล์และการเคลื่อนที่ผ่านรูพรุนพบว่า เซลล์ที่มี MARCKS มากจะเพิ่มการยึดเกาะและลดอัตราการเคลื่อนที่ แตกต่างจากเซลล์ที่ถูกกระตุ้นให้มี p-MARCKS มากขึ้นจะลดการยึดเกาะและเพิ่มความเร็วในการเคลื่อนที่ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า เซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งท่อน้ำดีที่มีปริมาณ MARCKS มากจะถูกเปลี่ยนแปลงให้เป็น p-MARCKS โดยผ่านทางการทำงานของ PKC ซึ่งมีการกระตุ้นในเซลล์มะเร็งอยู่แล้ว ส่งผลทำให้เพิ่มการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง หากเราสามารถยับยั้งการทำงานของ PKC และ p-MARCKS น่าจะเป็นแนวทางหนึ่งที่มีประโยชน์ในการใช้รักษาโรคมะเร็งท่อน้ำดีได้ในอนาคต

Abstract

220759

Myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS), a substrate of protein kinase C has been suggested to be implicated in cell adhesion, secretion and motility through regulation of the actin cytoskeletal structure. The previous study demonstated that MARCKS mRNA was significantly overexpressed in Ov/NDMA-associated cholangiocarcinoma (CCA) hamster livers by using SYBR Green real time RT-PCR and mRNA *in situ* hybridization. This study aims to determine the role(s) of MARCKS in controlling of CCA cell lines. KKU-M156 cell line was subjected to introduce for MARCKS overexpression by stable trasfection using retroviral system. MARCKS protein was determined by fluorescence microscopic technique. When adding TPA (PKC activator) into the MARCKS overexpressing cell line, we could detect the phosphorylated MARCKS (p-MARCKS) that increased after 15 min of incubation. Decrease in cell adhesion but increase in cell migration has been observed in TPA-activated cell line containing overexpressing MARCKS. This study concludes that CCA cell line with highly expressing MARCKS could be stimulated by PKC signaling pathway and leads to enhance cancer metastasis. This data could be useful for challenging the new therapeutic strategy for CCA therapy in the future.