

52361205: MAJOR : PHARMACEUTICAL SCIENCES

KEY WORDS: ADIPOSE DIFFERTIATION-RELATED PROTEIN (ADRP), TUMOR
NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α), INFLAMMATION,
DIFFERENTIATION

SIRIKUL DANGMANEE : EFFECT OF ADIPOSE DIFFERENTIATION-
RELATED PROTEIN ON TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA EXPRESSION AND
MONOCYTE DIFFERENTIATION IN HUMAN MONOCYtic CELL LINE U937. THESIS
ADVISORS : ASST. PROF. WISIT TANGKEANGSIRISIN, Ph.D., AND ASST. PROF.
SIRIPAN LIMSIRICHAIKUL, Ph.D., 113 pp.

Monocytes/macrophages play an important role in pathogenesis of inflammatory diseases including atherosclerosis. During monocyte differentiation, subsequent changes are characterized by morphological changes, lipid droplet accumulation and proinflammatory cytokine release. Adipose differentiation-related protein (ADRP) is suggested as a hallmark of lipid droplet accumulation in monocytes/macrophages. Therefore, the purpose of this study is to investigate the effect of ADRP on differentiation and inflammation in monocytes. U937 monocytic cell line was used as a model in this study. Monocytes were induced to differentiate by all-*trans*-retinoic acid (RA) and/or phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA). The results presented that ADRP expression was stimulated by RA and/or PMA. PMA, but not RA, induced monocyte differentiation, as indicated by morphological changes and release of proinflammatory cytokine tumor necrosis factor-alpha (TNF- α). Moreover, RA potentiated the effect of PMA on monocyte differentiation and TNF- α release. Meaningful, ADRP downregulation by stable transfection with shRNA caused resistance to PMA with/without RA induced-monocyte differentiation and TNF- α release. These findings demonstrated that ADRP is an essential factor regulating differentiation and inflammation in monocytes. Thus, ADRP may be a putative molecular target for prevention and treatment of several diseases associated with inflammation.

Program of Pharmaceutical Sciences

Graduate School, Silpakorn University

Student's signature.....

Academic Year 2012

Thesis advisors' signature 1. 2.

52361205 : สาขาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์

คำสำคัญ : ADIPOSE DIFFERTIATION-RELATED PROTEIN (ADRP), TUMOR

NECROSIS FACTOR-ALPHA (TNF- α), การอักเสบ, การเปลี่ยนแปลงเซลล์

สิริกกุล แดงมณี : ผลของ Adipose Differentiation-Related Protein ต่อการ
แสดงออกของ Tumor Necrosis Factor-Alpha และการเปลี่ยนแปลงเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาว
ของมนุษย์ U937. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ภก. ผศ. ดร. วิสิฐ ตั้งเคียงศิริสิน และ ภญ.
ผศ. ดร. สิริพรรณ ลิ้มศิริชัยกุล. 113 หน้า.

เซลล์ monocytes และ macrophages มีบทบาทสำคัญในพยาธิกำเนิดของโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบ ซึ่งรวมถึงโรคหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของ monocytes พบว่าเซลล์จะมีการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยา เกิดการสะสมหยดไขมัน และการหลั่งไซโตไคน์ในกระบวนการอักเสบ ทั้งนี้ adipose differentiation-related protein (ADRP) เป็นโปรตีนสำคัญในการสะสมหยดไขมันใน monocytes/macrophages การศึกษาครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ ADRP ต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงและการอักเสบในเซลล์ monocytes โดยใช้ human monocytic cell line U937 ซึ่งเป็นเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวของมนุษย์เป็นแบบจำลองในการศึกษา โดยพบว่า ADRP ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการแสดงออกในเซลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วย phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA) และ/หรือ all-trans-retinoic acid (RA) นอกจากนี้ PMA สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ monocytes โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของเซลล์และการหลั่ง tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) ซึ่งเป็นไซโตไคน์ในกระบวนการอักเสบ ในขณะที่ RA ไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดผลดังกล่าวได้ แต่พบว่า RA ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำของ PMA ต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ monocytes และการหลั่ง TNF- α ทั้งนี้ เมื่อควบคุมให้ ADRP มีการแสดงออกน้อยลงด้วย shRNA ที่ถูกนำส่งเข้าสู่เซลล์แบบถาวร พบว่าเซลล์ต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงและการหลั่ง TNF- α เมื่อกระตุ้นด้วย PMA ชนิดเดียว หรือกระตุ้นร่วมกับ RA ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้ เป็นข้อมูลที่แสดงให้เห็นว่า ADRP มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงและการอักเสบในเซลล์ monocytes โดยอาจเป็นโมเลกุลเป้าหมายในการป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบต่อไป

สาขาวิชาวิทยาการทางเภสัชศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ลายมือชื่อนักศึกษา

ปีการศึกษา 2555

รายชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. 2.

ACKNOWLEDGEMENTS

It is my great opportunity to study and complete my thesis research in the Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, in which I have fulfilled with the great academics from lecturers and got a chance to use powerful equipment to success my work. I really like to express my gratitude for many people who stand by me over the period of time.

First of all, I would like to thank my advisor Dr. Wisit Tangkeangsirisin, who gives me a great opportunity to access challenged work. I have learned and got many thoughtful ideas from him. I feel very glad to know him and be his student. I would like to deeply thank my co-advisor Dr. Siripan Limsirichaikul for her meaningful advise, support and encouragement with her kindness. I would like to acknowledge Dr. Busaba Powthongchin for U937 cell line and the Department of Microbiology, Faculty of Science, Silpakorn University for supporting the powerful microscope and digital camera. I would like to thank the members of my committee, Dr. Piyanuch Jongsamak, and Dr. Puchapat Sojikul who evaluated my work and spend their time in reading and giving me the valuable comments, I also would like to thank all lecturers who took effort in teaching me.

I would like to acknowledge the Graduate School, Silpakorn University for the financial support (Annual Government Budget Expenditures for the Fiscal year 2011). This thesis is partially supported by Faculty of Pharmacy, Silpakorn University and in part by The Student Exchange Support Program (Scholarship for Short-Term Visit/Short-Term Stay Program) of the Japan Student Services Organization (JASSO). I would like to thank Professor Naoto Yamaguchi and his laboratory members (the Department of Molecular Cell Biology, Chiba University, Japan). I am gratefully appreciated for the research financial granted by The National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Thailand.

I would like to thank scientists and officers for providing me with documents and equipment. I also would like to thank my friends who make me feel like I will never walk alone. I would like to specially express my gratitude to my family for understanding and support me whatever and whenever. Now I realize that my family is *the most precious thing in my life*. Finally, I would like to thank all experience that makes me much stronger.