

**INVESTIGATION OF THE ROLE OF INSULIN-LIKE GROWTH  
FACTOR-II RECEPTOR IN 3T3-L1 PREADIPOCYTE  
DIFFERENTIATION**



**SIRARACH PHOOKITSANA**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2013**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

**INVESTIGATION OF THE ROLE OF INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-II  
RECEPTOR IN 3T3-L1 PREADIPOCYTE DIFFERENTIATION****SIRARACH PHOOKITSANA 5237115 SCBC/M****M.Sc. (BIOCHEMISTRY)****THESIS ADVISORY COMMITTEE: SARAWUT JITRAPAKDEE, Ph.D.,  
WARAPORN KOMYOD, Ph.D.****ABSTRACT**

Insulin-like growth factors (IGF-I and IGF-II) play important roles in cell growth, differentiation and development. The biological effect of IGF-II is mediated by signaling through the IGF-I receptor (IGF-IR) and the insulin receptor (IR). IGF-IIR plays a role in controlling the availability of IGF-II via internalization and degradation of excess IGF-II. Furthermore, IGF-IIR acts as a receptor for the mannose-6-phosphate containing proteins. While IGF-I and IGF-IR have been shown to be crucial for adipocyte differentiation, the role of IGF-IIR in adipocyte differentiation has never been investigated. Here we investigate the expression pattern of IGF-IIR during differentiation of 3T3-L1 preadipocytes to mature adipocytes. The levels of IGF-IIR mRNA were highly abundant in preadipocytes but were gradually decreased during differentiation toward mature adipocytes. Suppression of IGF-IIR expression by 75% in 3T3-L1 preadipocytes did not appear to impair their differentiation to mature adipocytes as judged by Oil red O staining. Furthermore, gene expression analysis of adipogenic marker genes PPAR $\gamma$ -1, PPAR $\gamma$ -2, PC, aP2, GLUT4 and CEBP $\alpha$  confirmed that their expression was not significantly different between the IGF-IIR knockdown and control cells during differentiation. Our results suggest that IGF-IIR is not crucial for adipocyte differentiation.

**KEY WORDS: INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-II RECEPTOR (IGF-IIR)/  
3T3-L1 PREADIPOCYTE CELL LINE/ ADIPOCYTE  
DIFFERENTIATION**

72 pages

Copyright by Mahidol University

การตรวจสอบบทบาทการทำงานของหน่วยรับสัญญาณของอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 2 ในระหว่างการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ไขมันเริ่มต้น 3T3-L1

INVESTIGATION OF THE ROLE OF INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR-II RECEPTOR IN 3T3-L1 PREADIPOCYTE DIFFERENTIATION

ศิริรัช ภูักฤษณา 5237115 SCBC/M

วท.ม. (ชีวเคมี)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: สราวุฒิ จิตรภักดี, Ph.D., วราภรณ์ คำยอด, Ph.D.

#### บทคัดย่อ

อินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 1 และ 2 มีบทบาทหน้าที่สำคัญในการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และการพัฒนาของเซลล์ ผลกระทบทางชีวภาพของอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 2 ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการกระตุ้นส่งสัญญาณผ่านทางหน่วยรับสัญญาณของอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 1 และหน่วยรับสัญญาณของอินซูลินเท่านั้น ในขณะที่การมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 2 และหน่วยรับสัญญาณของอินซูลินไลต์แฟคเตอร์ 2 มีบทบาทสำคัญในการควบคุมปริมาณของอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 2 โดยวิธีการทำให้เสียสภาพเมื่อมีปริมาณของอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 2 มากเกินไปภายในเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่าหน่วยรับสัญญาณของอินซูลินไลต์แฟคเตอร์ 2 ยังมีบทบาทในการเป็นหน่วยรับสัญญาณของโปรตีนที่ประกอบด้วยโมเลกุลแมนโนสซิกฟอสเฟตอีกด้วย จากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่า อินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 1 และหน่วยรับสัญญาณอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 1 แสดงให้เห็นว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งในกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ไขมัน ขณะที่หน่วยรับสัญญาณอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 2 ยังไม่มีการค้นพบบทบาทที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ไขมัน ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงทำการศึกษาและตรวจสอบรูปแบบการแสดงออกของหน่วยรับสัญญาณอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 2 ระหว่างการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ไขมัน จากผลการทดลองพบว่า ระดับการแสดงออกของ mRNA ของหน่วยรับสัญญาณอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 2 มีการแสดงออกที่สูงมากในช่วงของเซลล์ไขมันเริ่มต้น แต่จะค่อยๆลดการแสดงออกในระหว่างที่เซลล์ไขมันเริ่มต้นมีการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ไขมันที่โตเต็มที่ และจากการทดลองลดการแสดงออกของอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 2 ที่ร้อยละ 90 ของการแสดงออกปกติ พบว่า ไม่ปรากฏว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ไขมันเมื่อใช้วิธีการย้อมสีของไขมันที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ไขมันด้วยสีซีย้อมออกซิดเรดโอ และจากการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนที่มีความจำเพาะต่อเซลล์ไขมัน ได้แก่ PPAR $\gamma$ -1, PPAR $\gamma$ -2, PC, aP2, GLUT4 และ CEBP $\alpha$  เป็นการยืนยันว่า การแสดงออกยีนที่จำเพาะต่อเซลล์ไขมันทั้งหมดไม่มีการแสดงออกที่แตกต่างกับอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกระหว่างเซลล์ไขมันที่ถูกระงับการแสดงออกของยีนหน่วยรับสัญญาณอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 2 และ เซลล์ไขมันควบคุมในระหว่างการเหนี่ยวนำให้มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ไขมัน ดังนั้นจากผลการทดลองทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าหน่วยรับสัญญาณอินซูลินไลต์โกรด์แฟคเตอร์ 2 ไม่สำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ไขมัน