

19 APR 2002



**ROLE OF MYOSIN IN CANCER INVASION AND  
METASTASIS**

**KANJANA PHATTARASAKUL**  
๖

With compliments  
of

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล  
.....

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

**2002**

**ISBN 974-04-1201-7**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH  
K16M  
2002  
c.2

Copyright by Mahidol University

**4036409SCBC/M : MAJOR: BIOCHEMISTRY; M.Sc. (BIOCHEMISTRY)**

**KEY WORDS : CANCER INVASION / METASTASIS / MRLC  
PHOSPHORYLATION**

**KANJANA PHATTARASAKUL : ROLE OF MYOSIN IN CANCER  
INVASION AND METASTASIS. THESIS ADVISOR; RUTAIWAN  
TOHTONG, Ph.D., PRAPON WILAIRAT, Ph.D., 117p. ISBN 974-04-1201-7**

In this thesis, I want to determine if MRLC phosphorylation is activated in metastatic cancer cells, and how this activation contributes to cancer invasiveness. Cancer metastasis is the major cause of death among cancer patients. Inhibition of this process should serve as an effective strategy to reduce death rate in cancer patients. Highly metastatic cancer cells are different to other metastatic types. Some differences imply increased myosin activity. Myosin activity is stimulated by phosphorylation of the regulatory subunit, namely myosin regulatory light chain (MRLC).

I have investigated the role of myosin phosphorylation in cancer invasion by examining the effects of two inhibitors of myosin light chain kinase (MLCK) on *in vitro* invasion, motility and gelatinase secretion. Invasion was studied in Matrigel-coated Boyden chamber transwell assay. Motility was assayed using Boyden chamber without membrane coating. Gelatinase secretion was assayed by Gelatin zymography.

Data from 3 prostatic adenocarcinoma cell lines with different metastatic potentials and 2 MLCK inhibitors showed a consensus result that MLCK treatment severely decreases cancer cell invasion concomitant with a reduction in cellular motility, whereas the ability to survive and proliferate, and to secrete gelatinases were unchanged. These effects of MLCK inhibitors contrast those of methotrexate, a DNA-damaging drug, which causes concomitant decrease in cellular invasion and survival.

4036409 SCBC/M : สาขาวิชา: ชีวเคมี ; วท.ม. (ชีวเคมี)

กาญจนา ภัทรสกุล : การศึกษาบทบาทของ MYOSIN ต่อการบุกรุกและการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง (ROLE OF MYOSIN IN CANCER INVASION AND METASTASIS).

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ฤทัยวรรณ โตะทอง, Ph.D. : ประพนธ์ วิไลรัตน์, Ph.D.,  
117หน้า. ISBN 974-04-1201-7

งานวิจัยนี้ต้องการศึกษาว่ามีการกระตุ้น MRLC phosphorylation ในเซลล์มะเร็งที่มีความสามารถในการแพร่กระจายหรือไม่ และ การกระตุ้น MRLC phosphorylation มีความสำคัญต่อความสามารถในการบุกรุกของเซลล์มะเร็งชนิดแพร่กระจายอย่างไร การแพร่กระจายของมะเร็ง (Cancer metastasis) เป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตของผู้ป่วยโรคมะเร็ง การยับยั้งการแพร่กระจายของมะเร็งจึงอาจช่วยลดอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยโรคมะเร็งได้ มะเร็งที่มีความสามารถในการแพร่กระจายสูงจึงมีคุณสมบัติแตกต่างไปจากมะเร็งชนิดที่ไม่มีการแพร่กระจาย หรือ ชนิดที่มีความสามารถในการแพร่กระจายต่ำหลายประการ คุณสมบัติบางประการที่เปลี่ยนไป ซึ่งแนะว่า myosin activity ภายในเซลล์อาจถูกกระตุ้น และอาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เซลล์มะเร็งสามารถแพร่กระจายออกไปได้ Myosin activity ถูกกระตุ้นได้ด้วยขบวนการ phosphorylation ที่บน subunit ย่อยที่ชื่อว่า myosin regulatory light chain (MRLC) โดยเราได้ยับยั้งขบวนการ MRLC phosphorylation ด้วย chemical inhibitors แล้วตรวจสอบผลกระทบต่อความสามารถในการเคลื่อนที่ และการบุกรุกผ่าน matrigel ของเซลล์มะเร็งชนิดแพร่กระจาย รวมทั้งการหลั่งเอนไซม์ gelatinase มาสลาย membrane จากการศึกษาระบบเซลล์มะเร็ง Rat prostatic adenocarcinoma ชนิดแพร่กระจาย 3 ชนิด โดยใช้ chemical inhibitors 2 ชนิด พบว่า การยับยั้ง MRLC phosphorylation มีผลทำให้การบุกรุกของเซลล์มะเร็งลดลง โดยมีได้มีผลกระทบต่ออย่างมีนัยสำคัญต่อการดำรงชีวิตของเซลล์ (Cell survival) และการหลั่ง gelatinase แต่ความสามารถในการบุกรุกที่ลดลงนี้เป็นเพราะเซลล์มะเร็งมีความสามารถในการเคลื่อนที่ลดลง ผลกระทบของ MLCK inhibitors ต่อเซลล์มะเร็งที่ได้นี้แตกต่างจากยาชนิดอื่น เช่น methotrexate ซึ่งมีผลยับยั้งการบุกรุกของเซลล์มะเร็งควบคู่ไปกับการอยู่รอดของเซลล์