



**ROLE OF MAP KINASE IN CELL INVASION AND METASTASIS
OF PROSTATIC CANCER CELLS**

PIRADEE PROMYART

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 974-04-1447-8

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

TH
P 66796
2002
e.2

4036424 SCBC/M: MAJOR: BIOCHEMISTRY; M. Sc. (BIOCHEMISTRY)

KEY WORDS : CANCER/ METASTASIS/ INVASION/ PROSTATE CANCER/
MAP KINASE/ SIGNAL TRANSDUCTION

PIRADEE PROMYART: ROLE OF MAP KINASE IN CELL INVASION AND
METASTASIS OF PROSTATIC CANCER CELLS. THESIS ADVISORS:
TUANGPORN SUTHIPHONGCHAI, Ph.D., PRAPON WILAIRAT, Ph.D.,
RUTAIWAN TOHTONG, Ph.D., 95 p. ISBN 974-04-1447-8

This study aims to investigate the role of MAP kinase in cell invasion and metastasis of rat prostatic adenocarcinoma cell lines. Cancer is a severe disease. Metastasis has become one of the primary concerns in cancer therapy. Due to alteration in growth factor signaling system, the most important of which is Ras/Raf/MAPK pathway. Signals from growth factor and integrins lead to activation of MAP kinase, resulting in 2 important effects: activation of cell proliferation and activation of cell motility.

The role of MAP kinase in cell invasion and metastasis was investigated by 1) studying the relationships between MAP kinase activity and metastatic potentials of Dunning rat prostatic cancer cell lines, AT-01, AT-02 and MLL, all of which were derived from the same parental origin, and 2) studying the requirement of MAP kinase activation on invasiveness, motility and MMP secretion of these cancer cell lines using specific MEK1 inhibitor (PD98059).

We found that the steady-state levels of activated MAP kinase correlated with invasiveness and metastatic potential of these three Dunning cell lines. Inhibition of MEK1, an upstream regulator of MAP kinase, with PD98059 resulted in a dose dependent reduction in the *in vitro* invasiveness of these three cancer cell lines, of which IC_{50} values were related to their steady-state levels of activated MAP kinase. This specific MEK1 inhibitor also suppressed cell motility whereas secretion of the metalloproteinases MMP2 and MMP9 and cell proliferation were not significantly affected. However, the IC_{50} values for motility were higher than those for invasiveness when compared within the same cell lines.

These results suggest that MAP kinase is necessary for cell invasiveness and may be responsible for the differences in metastatic ability of these cell lines. The reduction of invasiveness upon treatment with MEK1 inhibitor may partly be due to the impairment of cell motility. However, the differences in IC_{50} for invasiveness and motility implied that other invasive factors (that are not MMP2 and MMP9) must also be involved in the inhibitory effect of this inhibitor.

4036424 SCBC/M: สาขาวิชา: ชีวเคมี; วท.ม. (ชีวเคมี)

พริดี พร้อมญาติ: บทบาทของ MAP KINASE ในการ INVASION และ METASTASIS ของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมาก (ROLE OF MAP KINASE IN CELL INVASION AND METASTASIS OF PROSTATIC CANCER CELLS) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ตวงพร สุทธิพงษ์ชัย Ph.D., ประพนธ์ วิไลรัตน์ Ph.D., ฤทัยวรรณ โต้ะทอง Ph.D., 95 หน้า ISBN 974-04-1447-8

เซลล์มะเร็งสามารถเจริญเติบโตได้โดยขาดระบบการควบคุมที่พบในเซลล์ปกติ นอกจากนี้เซลล์มะเร็งยังมีคุณสมบัติสามารถแพร่กระจายไปยังส่วนต่างๆของร่างกายได้ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญในการเสียชีวิตของผู้ป่วยโรคมะเร็ง ในภาวะปกติเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิตจะเจริญเติบโตเพิ่มขนาดด้วยการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ของแต่ละเนื้อเยื่อนั้น กระบวนการนี้จะถูกควบคุมให้มีการเพิ่มจำนวนเซลล์ที่เหมาะสม โดยอาศัยการกระตุ้นจากสิ่งเร้าภายนอก แต่ในทางตรงกันข้าม เซลล์มะเร็งเป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการเติบโตและแบ่งตัวได้โดยไม่ต้องอาศัยการกระตุ้นจากสิ่งเร้าภายนอก ซึ่งการลดความต้องการจากสิ่งเร้าภายนอกนี้ มีผลเนื่องจากความผิดปกติของ oncogenes หลายชนิด ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อกระบวนการรับส่งสัญญาณจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ ทางหนึ่งที่สำคัญในการแบ่งเซลล์คือ Ras/Raf/MAP kinase pathway มีผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์ และนอกจากนี้ MAP kinase ที่ถูกกระตุ้นยังมีผลต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์ ซึ่งความสามารถนี้เป็นคุณสมบัติของเซลล์มะเร็งที่มีความสามารถในการแพร่กระจาย

โครงการวิจัยนี้เราศึกษาบทบาทของ MAP kinase ในเซลล์มะเร็งที่มีความสามารถในการแพร่กระจายโดยพบว่า active MAP kinase มีความสัมพันธ์ต่อความสามารถในการเคลื่อนที่ (motility) และบุกรุก (invasion) ของเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากหนู ที่มีความสามารถในการแพร่กระจายต่างกัน เมื่อเราทำการยับยั้ง active MAP kinase ด้วย MEK1 inhibitor พบว่า MEK1 inhibitor มีผลต่อการยับยั้งความสามารถในการเคลื่อนที่และการบุกรุกของเซลล์มะเร็งนี้โดยไม่มีผลกระทบต่อ การหลั่ง gelatinase (MMP-2 และ MMP-9) และไม่มีผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตของเซลล์ (proliferation) อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบความสามารถของ MEK1 inhibitor ที่ทำให้ความสามารถในการเคลื่อนที่และการบุกรุกลดลง 50% (IC_{50}) พบว่าค่า IC_{50} ของการเคลื่อนที่มากกว่า ค่า IC_{50} ของการบุกรุก จากข้อมูลที่ได้แสดงว่า active MAP kinase มีความสำคัญต่อความสามารถในการเคลื่อนที่ซึ่งเป็นขบวนการขั้นต้นของคุณสมบัติในการแพร่กระจาย อย่างไรก็ตามความแตกต่างของ IC_{50} ของการเคลื่อนที่และการบุกรุกชี้แนะว่า MEK inhibitor น่าจะมีบทบาทต่อปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องกับการบุกรุกของเซลล์ด้วย (ซึ่งปัจจัยนั้นไม่ใช่การหลั่ง MMP-2 หรือ MMP-9)