บทคัดย่อมหาวิทยาลัยนเรศวร

ส่วนที่ 1 รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การศึกษาบทบาทของโมเลกุล Nck ในการตอบสนองต่อการกระตุ้น T cell receptor ในด้านการเพิ่มจำนวน และการสร้างไซโตไคน์ของ T cell

(ภาษาอังกฤษ) A study of Nck function in T cell receptor activation; induction of human T cell proliferation and selective cytokine production

คณะผู้วิจัย และสัดส่วนที่ทำงาน (%)

1. หัวหน้าโครงการ (100 %)

ชื่อ-สกุล นางสุธาทิพย์ พงษ์เจริญ

คุณวุฒิ พบ., PhD (Immunology)

ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์

หน่วยงาน ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

โทรศัพท์ 055-261000 ext 5053, โทรสาร 055-261923

E-mail: sutatipwp@yahoo.co.uk ; sutatipp@nu.ac.th

ได้รับทุนอุดหนุนจากกองทุนวิจัยมหาวิยาลัยนเรศวร : ส่วนงบประมาณรายได้คณะแพทยศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2551 สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ กลุ่มวิชาแพทยศาสตร์

จำนวนเงิน 372,500 บาท (เพิ่มเติม 430,000) รวมเป็นเงินทั้งสิ้น 802,500 บาท

ระยะเวลาดำเนินโครงการ 2 ปี ตั้งแต่ 1 กันยายน 2551 ถึง 31 สิงหาคม 2553

ส่วนที่ 2 บทคัดย่อ

T cell receptor complex (TCR-CD3) ประกอบด้วย TCRα/β ligand binding subunits ที่จับอยู่กับ CD3 subunits, ซึ่งทำหน้าที่ signal transduction การจับกันของ TCR-CD3 จะเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง conformation ที่ทำให้ส่วนที่เป็น proline-rich sequence in CD3ε ถูกเผยออกมาจากโมเลกุลเชิงซ้อนนั้น, ผลที่ได้คือการดึง adaptor protein Nck เข้ามาทำหน้าที่ ซึ่งเชื่อว่าปรากฏการณ์นี้มีความสำคัญต่อการเจริญเต็มที่ของ immune synapse และต่อการกระตุ้น T cell และเชื่อว่ามีโมเลกุลเป็นจำนวนมากในเซลล์แต่ละชนิด ที่สามารถทำปฏิกิริยาได้กับ Nck ซึ่งบ่งบอกว่า Nck น่าจะทำหน้าที่หลายอย่างในเซลล์แต่ละชนิดและโดยเฉพาะในการเจริญหรือการกระตุ้น T cell อย่างไรก็ตามความสำคัญของ Nck ต่อการกระตุ้น T cell นั้นยังไม่แน่ชัด ดังนั้นการวิจัยนี้จึงตั้งขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์ว่าจะศึกษาบทบาทของการมี Nck โมเลกุลในการกระตุ้นและการทำหน้าที่ของ T cell โดยการใช้วิธีการที่เรียกว่า RNA silencing ซึ่งใช้ small interfering RNA (siRNA) เพื่อยับยั้งการแสดงออกของ Nck protein ใน Jurkat T cell line และใน human CD4 T cell การวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการยับยั้งการแสดงออกของโมเลกุล Nck1 ใน Jurkat T cell และพบว่าหลังจาก 48 h ของการทำ siRNA transfection แล้ว Nck1 protein ที่ลดระดับลงไปนั้นไม่มีผลต่อการตายแบบ apoptosis ของเซลล์ ผลการศึกษานี้แสดงว่าการไม่มีโมเลกุล Nck1 ไม่ได้ทำให้เซลล์ตายหรืออีกนัยหนึ่ง Nck1 อาจไม่มีความจำเป็นต่อการมีชีวิตของ Jurkat T cell ในทำนองเดียวกัน การกระตุ้น T cell โดยตรวจได้จากการแสดงออกของ CD69 ที่ผิวเซลล์ภายหลังการกระตุ้นด้วยสาร ionomycin-PMA พบว่า CD69 ยังคงมีอยู่เป็นปรกติ ดังนั้นผลการศึกษานี้จึงชี้ให้เห็นว่า NCK1 อาจจะไม่มีความจำเป็นในก่อให้เกิดการกระตุ้น T cell สำหรับ human CD4 T cell นั้น ในตอนต้นของงานวิจัยนั้นไม่สามารถยับยั้งการแสดงออกของ Nck1 ได้ ผู้วิจัยจึงได้เปลี่ยนวิธีการศึกษามาเป็นการทำ transfection ใน T cell ที่ถูกทำให้กลายสภาพเป็น T cell blast และผู้วิจัยกำลังดำเนินการศึกษาต่อเนื่องเพื่อพิสูจน์ความสำคัญและหน้าที่ของ Nck ในการกระตุ้นและการทำหน้าที่ของ human T cell

Abstract

The T cell receptor complex (TCR-CD3) is composed of TCRα/β ligand binding subunits bound to the CD3 subunits, which is responsible for signal transduction. Ligand engagement of TCR-CD3 induces a conformational change that exposes a proline-rich sequence in CD3ε, resulting in recruitment of the adaptor protein Nck. TCR-CD3 recruitment of Nck is believed to be critical for maturation of the immune synapse and for T cell activation. A large number of molecules being able to interact with Nck have been identified in different cellular systems, suggesting diverse additional functions of the adapter protein, such as in the control of gene expression and cell proliferation. Despite these, the importance of Nck in T cell activation remains controversy. The present study was, therefore, aimed to investigate the essential role of Nck in T cell activation and function. We used siRNA technique to silence the expression of Nck protein in Jurkat T cell line and in human CD4 T cells. It was found that Nck1 gene was successfully silenced in Jurkat T cells. While the Nck1 protein expression level was decreased, there were no significant differences in the numbers of the Jurkat T cells undergoing apoptosis between the transfected cell group and the control group at 48 h after siRNA transfection. The present study suggests that decreased Nck1 expression by siRNA silencing do not induce apoptosis in Jurkat cells. In addition, the loss of NCK1 did not affect CD69 expression in ionomycin-PMA stimulated Jurkat T cells. Since CD69 is an early activation marker for T cells, this result suggests that the NCK1 may not be indispensable for T cell activation. For the human CD4 T cells, initially we was not able to silence the NCK1 protein expression and we are now modifing the use of transfection method in the CD4 T cell blasts. Therefore, works are ongoing in our laboratory to further study the results of NCK depletion on primary human T cell functions.