

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาบทบาทของโปรตีน AMPK ในเซลล์ลำไส้ในการควบคุมการอักเสบ หน้าที่ปกป้อง และการหลั่งฮอร์โมน ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับภาวะลำไส้อักเสบ เช่น โรคอุจจาระร่วง และโรคเมตาบอลิกซินโดรม นอกจากนี้ยังมีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาบทบาทของโปรตีนตัวรับสารอาหารอันได้แก่ GPR39 (ตัวรับสังกะสี) GPR40 (ตัวรับโอเมก้า 3) และตัวรับแคลเซียม (CaSR) ในการควบคุมการทำงานของโปรตีน AMPK และหน้าที่ของเนื้อเยื่อลำไส้ ทางเดินหายใจ และผิวหนัง การศึกษาในเซลล์ลำไส้พบว่าสาร LPS จากแบคทีเรียแกรมลบยับยั้งโปรตีน AMPK ซึ่งผลจะเพิ่มขึ้นด้วย TNF- α ผ่าน NF- κ B และ MAPK นอกจากนี้ TNF- α ยังมีผลเพิ่มฤทธิ์ของ LPS ในการยับยั้งการประกอบตัวของ tight junction ในเซลล์ลำไส้ จากการศึกษาผลของสารที่กระตุ้นตัวรับ GPR39 พบว่าทำให้เกิดการกระตุ้นของโปรตีน AMPK ในเซลล์ลำไส้ที่ทำหน้าที่ปกป้องและหลั่งฮอร์โมน ทำให้เพิ่มหน้าที่ปกป้องและลดการอักเสบในเซลล์ดังกล่าวได้ ผู้วิจัยได้ขยายขอบเขตของการวิจัยเพื่อศึกษาบทบาทของโปรตีน AMPK ในการยับยั้งการอักเสบในโรคอุจจาระร่วงอหิวาตกโรค โรคข้อเข่าเสื่อม และภาวะการอักเสบของทางเดินหายใจและผิวหนัง ในหนูที่เป็นโรคอุจจาระร่วงอหิวาตกโรค ยาที่ออกฤทธิ์โปรตีน AMPK คือ flufenamic acid สามารถยับยั้งการเกิดอาการอุจจาระร่วงและลดการอักเสบในลำไส้ของหนูที่ติดเชื้ออหิวาต์ได้ผ่านการกระตุ้นโปรตีน CaMKK β นอกจากนี้ยังพบว่าสารที่กระตุ้น CaSR คือ chitosan oligosaccharide (COS) สามารถยับยั้งการอักเสบในเนื้อเยื่อหุ้มช่องกระต่ายและมนุษย์ผ่านการกระตุ้นโปรตีน AMPK และเมื่อให้สาร COS แก่กระต่ายที่เหนียวน่าให้เป็นโรคข้อเข่าเสื่อมพบว่า COS สามารถลดการอักเสบในข้อเข่าได้อย่างมีนัยสำคัญ การศึกษาในเซลล์เยื่อบุทางเดินหายใจพบว่า สารที่ออกฤทธิ์กระตุ้นโปรตีน GPR40 สามารถกระตุ้นการเพิ่มหน้าที่ปกป้องของเซลล์เยื่อบุทางเดินหายใจผ่านการกระตุ้นโปรตีน AMPK และสามารถป้องกันการทำลายหน้าที่ปกป้องของเซลล์เยื่อบุทางเดินหายใจที่เหนียวน่าด้วย TNF- α และ IL-1 β การศึกษาในเซลล์ผิวหนังพบว่า สารที่ออกฤทธิ์กระตุ้นโปรตีน GPR39 สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของเซลล์ผิวหนังและยับยั้งการอักเสบในเซลล์ผิวหนังผ่านการกระตุ้นโปรตีน mTOR และ AMPK ตามลำดับ ผลงานวิจัยจากโครงการวิจัยนี้สามารถสรุปได้ว่าโปรตีน AMPK และโปรตีนตัวรับสารอาหารอันได้แก่ โปรตีนตัวรับสังกะสี กรดไขมันโอเมก้า 3 และแคลเซียมเป็นโปรตีนเป้าหมายสำหรับการพัฒนาวิธีการรักษาโรคที่เกิดจากการอักเสบของลำไส้ โรคเมตาบอลิกซินโดรม ข้อเข่าเสื่อม โรคระบบหายใจ และโรคผิวหนัง

คำสำคัญ: เซลล์ลำไส้ โปรตีนเอเอ็มพีเค การอักเสบ โปรตีนตัวรับสารอาหาร

Abstract

This research project is aimed to investigate role of AMPK in the intestinal epithelial cells in regulating inflammatory responses, barrier function and enteroendocrine function, which are related to inflammatory intestinal conditions including diarrheas and metabolic syndrome. In addition, we sought to determine the role of nutrient-sensing receptors including GPR39 (zinc-sensing receptor), GPR40 (omega-3 receptor) and calcium-sensing receptors (CaSR) in regulating AMPK activation and governing epithelial functions. Using T84 cells as a model of intestinal epithelial cells, we found that LPS suppressed AMPK and this effect was potentiated by TNF- α via NF- κ B and MAPK pathways. In addition, TNF- α potentiated an effect of LPS on suppressing tight junction assembly in T84 cells. GPR39 agonist was found to activate AMPK in both T84 cells and STC-1 cells, enteroendocrine cells and promote tight junction assembly in T84 cell monolayers and suppress inflammation in STC-1 cells. Stimulation of CaSR by fructose oligosaccharide (FOS) activated AMPK and tight junction assembly in T84 cells via CaMKK β -AMPK pathways. FOS also suppressed LPS-induced AMPK inhibition and tight junction disruption in T84 cells. On top of this, we expand our study to investigate role of AMPK and effect of AMPK activators in suppressing inflammation in cholera diarrheas, osteoarthritis and airway and skin inflammation. We found that AMPK activator flufenamic acid suppressed inflammation and diarrheal response in a mouse model of cholera via mechanism involving direct interaction with CaMKK β . Another AMPK activator chitosan oligosaccharide (COS) was also found to suppress TNF- α -induced inflammatory responses in synovial fibroblasts from both rabbits and humans. Oral administration of COS reduced synovial inflammation and activated AMPK in synovial membrane in the rabbit model of ACL transection-induced osteoarthritis. We found that stimulation of GPR40 in airway epithelial cells resulted in AMPK activation, promotion of tight junction assembly and suppression of TNF- α plus IL-1 β -induced inflammatory responses and barrier disruption in airway epithelial (Calu-3) cells. Lastly, we investigated effect of GPR39 in human skin epithelial cells (HaCaT cells) and found that GPR39 receptor activation led to increased cell proliferation and suppression of inflammatory responses in these cells via mTOR and AMPK-mediated signaling pathways respectively. In summary, our findings indicate that AMPK and nutrient-sensing receptors represent promising drug targets for the treatment of inflammation-associated diseases of the intestine, joint, airway and skin and metabolic syndrome.

Keywords: intestinal epithelial cells, AMPK, inflammation, nutrient-sensing receptor