Abstract

Project Code : MRG5180179

Project Title : Differentiation of Mouse Embryonic Stem Cells into Renal Epithelia

Investigator : Khajohn Tiranathanagul Chulalongkorn University

E-mail Address : khajohn_t@hotmail.com

Project Period : 15th May 2008 – 14th January 2011

The need for more advanced therapeutic approaches to renal failure is obvious. Although the current dialysis has changed this deadly disease to non-fatal condition, it is still suboptimal because of the unpleasant long-term survival rate. Regenerative medicine and stem cell therapy are the potential therapeutic option to the kidney disease. However, the first important step to achieve that goal is to find the source of cells and explore their therapeutic potential. This study was conducted to determine the potential method of differentiation mouse embryonic stem cells (ESCs) into renal cells. In this study, we demonstrate that when mouse ESCs were induced to become mesoderm by cultured as embryoid bodies then treated with 10 ng/ml activin A and 0.1μM retinoic acid, adding VEGF to the induction media can increase level of Six2 expression by more than 5 folds compared to control. Real-time RT-PCR analyses showed that transcripts indicative of the presence of renal progenitors, such as Pax2, Sal1, WT1, GDNF, and podocalxin, were also markedly increased with VEGF treatment. Moreover, when the embryonic stem cell-derived mesenchyme were dissociated into single cell then co-cultured with 3T3 cells expressing BMP4, colonies consisting of several types of epithelial cells that exist in glomeruli and renal tubules were observed. Some cells differentiated into kidney-like structure. Our results suggest that VEGF may facilitate the more efficient generation of kidney progenitors from embryonic stem cells.

Keywords : embryonic stem cell, renal epithelia, differentiation

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5180179

ชื่อโครงการ การเปลี่ยนเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของหนูไปเป็นเซลล์ไต

ชื่อนักวิจัย อ.นพ.ขจร ตีรณธนากุล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address : khajohn_t@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ 15 พฤษภาคม 2551 – 14 มกราคม 2554

ปัญหาภาวะโรคไตวายทั้งเฉียบพลันและเรื้อรังเป็นภาวะที่มีอัตราการเสียชีวิตที่สูง แม้ว่ามีการรักษาด้วยการฟอกไตในปัจจุบัน ดังนั้นการพัฒนาการรักษาแบบใหม่ๆจึงมีความสำคัญ ซึ่งปัจจุบันความก้าวหน้าทางด้านชีววิทยาของเซลล์ โดยเฉพาะ เซลล์ต้นกำเนิดได้จุดประกายความหวังในการรักษาโรคด้วยการใช้เซลล์ แต่ขั้นตอนแรกของการรักษาต้องสามารถสร้างเซลล์ไตขึ้นมาให้ได้ก่อน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีที่จะเปลี่ยนเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของหนูให้ไปเป็นเซลล์ต้นกำเนิดไต โดยผ่านขั้นตอนการทำเป็นเอมบริออยบอดี้ จากนั้นกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงด้วย แอคติวินเอ กรดเรติโนอิก โดยเติมสารกระตุ้น วีอีจีเอฟ เพิ่มลงไป พบว่าสามารถทำให้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนเปลี่ยนเป็นเซลล์ซึ่งมีการแสดงออกของยีนด้วยวิธีเรียวทามพีซีอาร์ที่บ่งว่าเป็นเซลล์ไตได้โดย การแสดงออกของยีน Six2 Pax2 Sal1 WT1 และ GDNF เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังยืนยันด้วยการตรวจด้วยวิธีโฟลไซโตรเมทรี และการย้อมอิมมูโนฟลูออเรสเซนต์ด้วย นอกจากนี้ได้มีการทดลองนำเซลล์ดังกล่าวไปเลี้ยงรวมกับเซลล์พี่เลี้ยงที่มีการหลั่งบีเอมพี4 (3T3 cells expressing BMP4) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงรูปทรงของกลุ่มเซลล์เป็นลักษณะคล้ายโครงสร้างโกลเมอรูรัสของไต ดังนั้นการศึกษานี้สรุปได้ว่าการใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโตวีอีจีเอฟ ช่วยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนไปเป็นเซลล์ต้นกำเนิดไตได้