

รหัสโครงการ: MRG6180239

ชื่อโครงการ: บทบาทของไลโปคาลินทูรีเซพเตอร์ต่อการเป็นช่องทางการนำเข้าของเหล็กเข้าสู่เซลล์
กล้ามเนื้อหัวใจในสภาวะเหล็กเกิน

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน:

ผศ. ดร. ศิรินาฏ คำฟู

ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมสาขาโรคทางไฟฟ้าของหัวใจ

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

อีเมล: bc_nart@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 02-05-2018 ถึง 01-05-2020 (2 ปี)

บทคัดย่อ

ภาวะกล้ามเนื้อหัวใจเสื่อมจากการถูกชักนำด้วยภาวะเหล็กเกินเป็นสาเหตุหลักของการตายของผู้ป่วยที่มีภาวะเหล็กเกิน จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าช่องทางผ่านแคลเซียมชนิดแอลและชนิดที่มีบทบาทสำคัญต่อการนำพาเหล็กเข้าสู่หัวใจเมื่อมีภาวะเหล็กเกินเกิดขึ้น การศึกษาที่เพิ่งค้นพบเร็ว ๆ นี้พบว่าในเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจที่ได้สัมผัสกับไลโปคาลินทูรีนั้นทำให้มีการเพิ่มขึ้นของระดับเหล็กสะสมในเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการตายของเซลล์แบบอพอพโทซิส แต่อย่างไรก็ตาม บทบาทหรือกลไกของไลโปคาลินทูรีและตัวรับสารไลโปคาลินทูรีต่อการเป็นตัวขนส่งเหล็กเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจภายใต้ภาวะเหล็กเกินยังไม่มีผู้ทำการศึกษามาก่อน นำมาสู่การศึกษาในครั้งนี้ โดยเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจชนิด H9c2 จะได้รับการรักษาโดยการให้ siRNA ต่อกับไลโปคาลินทูรีหรือตัวรับสารไลโปคาลินทูรีเพื่อยับยั้งการแสดงออกของระดับ RNA ของไลโปคาลินทูรีหรือตัวรับสารไลโปคาลินทูรีเป็นเวลา 72 ชั่วโมง หรือได้รับการรักษาด้วยยายับยั้งช่องทางผ่านของแคลเซียมชนิดแอล (verapamil), ยายับยั้งช่องทางผ่านของแคลเซียมชนิดที (TTA-P2), ยาขับเหล็ก deferiprone เป็นเวลาหนึ่งชั่วโมง หลังจากการได้รับยาชนิดต่างๆ แล้ว เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจจะถูกเลี้ยงต่อด้วยอาหารที่ให้ภาวะเหล็กเกินโดยการให้เหล็กในรูปแบบเหล็กประจุสองบวกหรือสามบวกที่ความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะมีการวัดระดับของเหล็กสะสมในเซลล์ การมีชีวิตของเซลล์ โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการรักษาสมดุล

ของไมโทคอนเดรีย (mitochondrial dynamics) การเกิดการตายของไมโทคอนเดรีย (mitophagy) และการตายของเซลล์แบบอพอพโทซิส ผลการศึกษาพบว่า การให้ยายับยั้งช่องทางผ่านของแคลเซียมชนิดแอล, ยายับยั้งช่องทางผ่านของแคลเซียมชนิดทีและยาขับเหล็ก DFP ช่วยลดระดับเหล็กสะสมในเซลล์ เพิ่มการมีชีวิตรอดของเซลล์ผ่านการลดลงของการเกิดการแยกตัวของไมโทคอนเดรีย ลด mitophagy และลดระดับของ cleaved caspase-3 ซึ่งทำให้ลดการตายของเซลล์แบบอพอพโทซิสเฉพาะในสภาวะเหล็กสองบวกเกินเท่านั้น ไม่มีผลช่วยเหลือในภาวะเหล็กสามบวกเกิน ในทางตรงกันข้าม การให้การรักษาด้วยการยับยั้งไลโปคาลินทูหรือตัวรับสารไลโปคาลินทูโดยใช้ siRNA มีผลในการช่วยเพิ่มการมีชีวิตรอดของเซลล์ผ่านการลดลงของการรับเหล็กเข้าสู่เซลล์ ลดการเกิดการแยกตัวของไมโทคอนเดรีย ลด mitophagy และลดระดับของ cleaved caspase-3 ซึ่งทำให้ลดการตายของเซลล์แบบอพอพโทซิสเฉพาะในสภาวะเหล็กสามบวกเกินเท่านั้น ไม่มีผลช่วยเหลือในภาวะเหล็กสองบวกเกิน ดังนั้น ผลการศึกษาทั้งหมดบ่งชี้ว่า ช่องทางผ่านของแคลเซียมชนิดที่มีบทบาทสำคัญต่อการนำเหล็กสองบวกเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ ในขณะที่ไลโปคาลินทูหรือตัวรับสารไลโปคาลินทูมีบทบาทสำคัญต่อการนำเหล็กสามบวกเข้าสู่เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจเมื่อมีภาวะเหล็กเกินเกิดขึ้น ที่สำคัญคือการรักษาภาวะเหล็กเกินในหัวใจนั้นทำให้มีประโยชน์ต่อระดับของ mitochondrial dynamics และการมีชีวิตรอดของเซลล์ในลักษณะที่จำเพาะซึ่งขึ้นกับรูปแบบของภาวะเหล็กเกิน

คำสำคัญ: ภาวะเหล็กเกิน; เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ; ไลโปคาลินทู; ยายับยั้งช่องทางผ่านแคลเซียมชนิดแอล; ยายับยั้งช่องทางผ่านแคลเซียมชนิดที

Project Code: MRG6180239

Project Title: The roles of lipocalin-2 receptor as a portal of iron uptake into cardiomyocytes under iron overload condition

Investigator:

Asst. Prof. Dr. Sirinart Kumfu, PhD.

Cardiac Electrophysiology Research and Training Center

Faculty of Medicine, Chiang Mai University

E-mail Address: bc_nart@hotmail.com

Project Period: 02-05-2018 until 01-05-2020 (2 years)

Abstract

Iron overload cardiomyopathy is a common cause of death in iron overload patients. L-type calcium channels (LTCC) and T-type calcium channels (TTCC) have been shown to play crucial roles for cardiac iron uptake under iron overload condition. Recently, increased intracellular iron accumulation accompanied by apoptosis has been demonstrated in cardiomyocytes exposed to lipocalin-2 (LCN-2). However, the mechanistic roles of LCN-2 and LCN-2 receptor (LCN-2R) as iron transporters in cardiomyocytes under iron overload condition have never been investigated. H9c2 cardiomyocytes were treated with either LCN-2 siRNA or LCN-2R siRNA for 72 hr or LTCC blocker (verapamil), TTCC blocker (TTA-P2), or iron chelator deferiprone (DFP) for 1 hr. After the treatments, the cells were exposed to Fe^{3+} or Fe^{2+} at 200 μM for 48 hr. Intracellular iron level, cell viability, mitochondrial dynamics, mitophagy and apoptosis were determined. Treatments with LTCC blocker, TTCC blocker, and DFP significantly decreased intracellular iron accumulation and increased cell viability via decreasing mitochondrial fission, mitophagy and cleaved caspase-3 only in Fe^{2+} overload condition. In contrast, silencing of lipocalin-2 or its receptor improved cardiomyocytes viability via decreasing iron uptake, mitochondrial fission, mitophagy and cleaved caspase-3 only in Fe^{3+} overload condition. All of these findings suggested that LTCC and TTCC played crucial roles for Fe^{2+} uptake, whereas LCN-2 and LCN-2R were essential for Fe^{3+} uptake into the cardiomyocytes

under iron overload conditions. Importantly, treatments of cardiac iron overload exert their beneficial effects on mitochondrial dynamics and cell viability in valence-specific manner.

Keywords: iron overload; cardiomyocytes; lipocalin-2; LTCC blocker; TTCC blocker