

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ :RMU5080076

ชื่อโครงการ : การค้นหาชีวโมเลกุลที่จำเพาะต่อการวินิจฉัยและพยากรณ์โรคไตอักเสบลูปัส

ชื่อนักวิจัย : รศ.นพ. ยิงยศ อวิหิงสานนท์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address: yingyos.a@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ : 3 ปี (1 มิถุนายน 2550 - 31 พฤษภาคม 2553)

Systemic lupus erythematosus (SLE) เป็นโรคทาง autoimmune ที่เป็นปัญหาสำคัญ และมีความชุกสูงในคนไทยและชาวเอเชีย โดยเฉพาะอาการไตอักเสบลูปัส (Lupus Nephritis; LN) นั้นสามารถนำไปสู่โรคไตวายเรื้อรังหรือเสียชีวิตได้ การศึกษาที่ผ่านมาผู้วิจัยพบการแสดงออกที่แตกต่างกันของยีนในกลุ่ม Chemokine และ Growth factor ในปัสสาวะของผู้ป่วย LN สามารถใช้ในการวินิจฉัยและพยากรณ์โรคได้ ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาชีวโมเลกุลอื่นๆภายในชิ้นเนื้อไต, เลือด และปัสสาวะของผู้ป่วย LN ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์กับการเกิดพยาธิสภาพภายในไต, ความรุนแรงของโรค รวมทั้งสามารถใช้เป็นเครื่องหมายชีวภาพ (Biomarker) ในการทำนายการตอบสนองต่อการรักษาในช่วงเวลาสั้นๆ (short-term outcome) ได้ ผู้วิจัยแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ การแสดงออกของยีน (mRNA expression), การแสดงออกของโมเลกุลบนผิวเซลล์ในปัสสาวะ (Urinary cells type specific) และการแสดงออกของโปรตีน (Proteomic) ผลการศึกษาพบว่าในผู้ป่วย LN มีการแสดงออกของยีน Vascular Endothelial growth Factor (VEGF), Heme oxygenase 1 (HO-1), Wilms' tumour suppressor gene (WT1), Forkhead box P3 (FOXP3) และ Notch-1 แตกต่างจากคนปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะการแสดงออกของยีน VEGF ในเนื้อไตซึ่งมีปริมาณลดลงในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง (Class IV LN) และสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคและการเกิดไตวายเรื้อรังในระยะเวลาอันใกล้ด้วย ซึ่งผู้วิจัยพบว่าการลดลงดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของการแสดงออกของ VEGF และ WT-1 ในปัสสาวะ ดังนั้นผู้วิจัยได้มีสมมติฐานเพิ่มเติมว่าเซลล์ที่หลุดมาในปัสสาวะส่วนหนึ่งเป็นเซลล์ Podocytes ภายในไต จึงได้ตรวจวัดชนิดของเซลล์ในปัสสาวะด้วยเทคนิค Flow Cytometry และใช้โปรตีน WT-1 ซึ่งจำเพาะบนผิวเซลล์ของเซลล์ Podocytes พบว่าผู้ป่วยที่มีอาการกำเริบของโรค (active LN) มีเซลล์ podocytes หลุดออกมา มากกว่าผู้ป่วยที่ไม่มีอาการกำเริบของโรค (inactive LN) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการแสดงออกของยีนข้างต้น นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาการแสดงออกของโปรตีน (Proteomic) ในปัสสาวะด้วยวิธี 2-Dimension Gel พบว่าโปรตีน Prostaglandin H2 D-isomerase (PGD2) มีความแตกต่างกันในผู้ป่วย LN และคนปกติ นอกจากนี้เมื่อวัดปริมาณการแสดงออกของโปรตีน Interferon gamma-induced protein 10 kDa (IP-10) ก็พบว่าผู้ป่วย LN มีปริมาณโปรตีนดังกล่าวสูงกว่าคนปกติ โดยเฉพาะผู้ป่วย active LN จะมีปริมาณโปรตีน

ดังกล่าวสูงกว่าผู้ป่วย inactive LN อีกด้วย ทั้งนี้การลดลงของปริมาณโปรตีน IP-10 ยังมีความสัมพันธ์กับตอบสนองต่อการรักษาด้วย จากการศึกษาทั้งหมดข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของยีน VEGF และ WT-1 (podocyte marker) และโปรตีน IP-10 และ PGD2 ในปัสสาวะสามารถใช้ประโยชน์เป็น non-invasive marker ในผู้ป่วย LN โดยที่การแสดงออกดังกล่าวสอดคล้องกับความรุนแรงและการตอบสนองต่อการรักษาในช่วงเวลาสั้น ๆ (short-term outcome) อีกด้วย

คำหลัก : โรคไตอักเสบรูมาตอยด์, Vascular Endothelial growth Factor, Forkhead box P3, Notch-1, Interferon gamma-induced protein 10 kDa, เซลล์ Podocyte, การแสดงออกของยีน , Real-Time PCR, Proteomic

Abstract

Project Code: RMU5080076

Project Title: The molecular profiling of urine and kidney tissue: biomarkers discovery in lupus nephritis

Investigator: Assoc. Prof. Yingyos Avihingsanon
Faculty of Medicine, Chulalongkorn University

E-mail Address: yingyos.a@gmail.com

Project Period: 3 years (1 June 2007 – 31 May 2010)

SLE is the most common autoimmune disease in Thailand and Asian countries. Lupus nephritis, the severe form of SLE, could lead to the end-stage kidney disease or death. We formerly studied urine mRNA expression of chemokines and growth factors as diagnostic / prognostic markers of lupus nephritis. In this project, we aimed to discover biomarkers in serum, urine and kidney tissue of patients with lupus nephritis. These markers might be associated with severity of renal histology, renal function or response to treatments. The project was divided into part 1. mRNA expression study, 2. Urinary cell-surface marker study, and 3. Proteomics study. We found Vascular endothelial growth factor (VEGF), Heme oxygenase-1 (HO-1), Wilm's tumor suppressor gene (WT-1), Fox-head box P3 (FoxP3) and Notch-1 associated with LN. In particular, VEGF was associated with disease severity and end-stage kidney disease. The reduction of VEGF expression was partly caused by podocytes loss into urine. The decreased VEGF levels were associated with poor renal outcomes. This may lead to the novel molecular classification which may be complement to the current diagnostic method of renal biopsy. In proteomics study, the 2-D PAGE method was used and discovered Prostaglandin-H2D isomerase. Furthermore, urine Interferon-inducible protein-10 (IP-10) was found to be useful urinary biomarkers for monitoring response to treatment.

In conclusion, this project discovered and validated a number of biomarkers for development of diagnostic / monitoring / prognostic tests.

Keywords: Vascular Endothelial growth Factor, Forkhead box P3, Notch-1, Interferon gamma-induced protein 10 kDa, Podocyte, gene expression, Real-Time PCR, Proteomics