

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : TRG5980004

ชื่อโครงการ : บทบาทของ Pregnane x receptor และ Constitutive androstane receptor ต่อการควบคุมการขนส่งคลอไรด์ในเซลล์ลำไส้: ศักยภาพในการรักษาโรคท้องร่วง

ชื่อนักวิจัย : อ.ดร.สุธิชา กฤตยารักษ์สกุล
คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช

อีเมล : suticha@nmu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี (มิถุนายน 2559 ถึง พฤษภาคม 2561)

บทคัดย่อ:

Constitutive androstane receptor (CAR) และ pregnane x receptor (PXR) เป็นนิวเคลียร์รีเซพเตอร์ที่มีบทบาทในการควบคุมการแสดงออกของยีนหลายชนิดที่มีความสำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมและการเปลี่ยนแปลงสภาพของยาและสารเคมีต่างๆ ในร่างกาย มีการศึกษาพบว่า CAR และ PXR ควบคุมการแสดงออกของยีน ATP-binding cassette (ABC) transporters ในลำไส้ ได้แก่ multidrug resistance protein 1 (MDR1) และ multidrug resistance-associated protein 2/3 (MRP2 และ MRP3). โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาบทบาทของ CAR และ PXR ต่อการควบคุมการทำงานของโปรตีนขนส่งคลอไรด์ที่มีชื่อว่า cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) ในเซลล์ลำไส้ของมนุษย์ (T84 cells) และในลำไส้ของหนูถีบจักร ผลการทดลองพบว่าเมื่อมีการกระตุ้น T84 cells เป็นเวลา 24 ชั่วโมงด้วยสารกระตุ้น CAR ทั้ง 2 ชนิด คือ CITCO (1 μ M) และ Phenytoin (5 μ M) หรือสารกระตุ้น PXR ทั้ง 2 ชนิด คือ rifampicin (10 μ M) และ SR12813 (1 μ M) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถลดการหลั่งไอออนใน T84 cells เมื่อถูกเหนี่ยวนำโดย cAMP โดยผลการยับยั้งที่เกิดขึ้นไม่ได้เกิดจากความเป็นพิษของสาร CAR agonist และ PXR agonist ต่อเซลล์ นอกจากนี้ผู้วิจัยยังศึกษาผลของสารกระตุ้น PXR และ CAR ต่อการขนส่งคลอไรด์ผ่านโปรตีนขนส่งคลอไรด์ที่อยู่ทางด้าน apical membrane ใน T84 cells โดยทำการ permeabilize เซลล์ด้าน basolateral membrane ผลการทดลองพบว่าสารกระตุ้น CAR (CITCO 1 μ M) และสารกระตุ้น PXR (rifampicin 10 μ M) มีผลลดการขนส่งคลอไรด์ผ่านผนังลำไส้ใน T84 cells โดยสามารถยับยั้ง cAMP-activated apical Cl^- current เมื่อได้รับการกระตุ้นด้วย cpt-cAMP และ

CFTR activator (Genistein) เมื่อทำการวัดการแสดงออกของยีนและโปรตีน CFTR ในเซลล์ T84 cells หลังจากได้รับสารกระตุ้น CAR agonist (CITCO และ phenytoin) ผลการทดลองพบว่าสารกระตุ้น CAR มีผลลดการแสดงออกของยีนและโปรตีน CFTR ใน T84 cells นอกจากนี้ยังพบว่าสารยับยั้งการทำงานของ CAR (CINPA1) สามารถบล้างฤทธิ์ของสารกระตุ้น CAR ต่อการหลั่งคลอไรด์และการแสดงออกของโปรตีน CFTR ได้ ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาสารกระตุ้น PXR และ CAR ต่อการหลั่งคลอไรด์ที่เหนี่ยวนำโดย cholera toxin ใน T84 cells จากผลการทดลองพบว่า CAR agonist (CITCO) มีผลลดการหลั่งคลอไรด์ผ่านผนังลำไส้ใน T84 cells ที่ถูกเหนี่ยวนำโดย cholera toxin จากการศึกษาในหนูถีบจักรพบว่าเมื่อหนูถีบจักรได้รับสาร TCPOBOP (3 mg/kgBW) ซึ่งเป็น murine-specific CAR agonist เป็นเวลา 7 วัน สามารถลดการแสดงออกของยีนและโปรตีน CFTR ในลำไส้ นอกจากนี้สาร TCPOBOP สามารถยับยั้งการหลั่งสารน้ำในลำไส้ของหนูถีบจักรเมื่อถูกเหนี่ยวนำโดย cholera toxin จากข้อมูลนี้สรุปได้ว่าการกระตุ้นการทำงานของ CAR มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมการทำงานของ CFTR ในลำไส้ โดยมีผลลดการแสดงออกของ CFTR ดังนั้นการกระตุ้นการทำงานของ CAR มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นยารักษาโรคที่มีการทำงานที่มากผิดปกติของ CFTR โดยเฉพาะอย่างยิ่ง โรคท้องร่วงชนิด secretory diarrhea

คำหลัก : นิวเคลียร์รีเซพเตอร์, ตัวรับรู่ยาหรือสารเคมี, การขนส่งอิเล็กโทรไลต์, โปรตีนขนส่งคลอไรด์, โรคท้องร่วง

Abstract

Project Code : TRG5980004

Project Title : Roles of pregnane x receptor and constitutive androstane receptor in the regulation of intestinal chloride transport and potential application for treatment of diarrhea

Investigator : Dr.Suticha Kittayaruksakul

Faculty of Medicine Vajira Hospital, Navamindradhiraj University

E-mail Address : suticha@nmu.ac.th

Project Period: 2 years (June 2016 – May 2018)

Abstract:

Constitutive androstane receptor (CAR) and pregnane x receptor (PXR) belonging to the nuclear receptor superfamily plays an important role in the xenobiotic metabolism and disposition. It has been reported that CAR and PXR regulates the expression of the ATP-binding cassette (ABC) transporters in the intestine, such as multidrug resistance protein 1 (MDR1) and multidrug resistance-associated protein 2/3 (MRP2 and MRP3). In this study, we investigated the role of CAR and PXR in the regulation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR)-mediated chloride transport in T84 human colonic epithelial cells and mouse intestinal tissues. Treatments of T84 cell monolayers with specific CAR agonists (CITCO and phenytoin at concentrations of 1 μ M and 5 μ M, respectively) for 24 h decreased transepithelial Cl⁻ secretion in response to cAMP-dependent agonist. Moreover, exposure the cells to PXR agonists, rifampicin and SR12813, for 24 h led to decreases in cAMP-dependent Cl⁻ secretion. We confirmed that the inhibitory effects were not the result from cytotoxicity of the compounds to T84 cells. Basolateral membrane permeabilization experiments also revealed that CAR agonist (CITCO) and PXR agonist (rifampicin) decreased apical Cl⁻ current stimulated by both cpt-cAMP and genistein (a direct CFTR activator). It was found that activation of CAR by it agonist reduced both mRNA and protein expression of CFTR. This inhibition was abolished by coincubation of CITCO with a CAR antagonist,

CINPA1. Furthermore, CITCO decreased cholera toxin (CT)-induced Cl^- secretion across T84 cell monolayers. In ICR mice, administration of TCPOBOP (3 mg/kgBW), a murine-specific CAR agonist, for 7 days produced significant decreases in CFTR mRNA and protein expressions in intestinal tissues. Interestingly, TCPOBOP also inhibited CT-induced intestinal fluid accumulation in mice. This is the first evidence showing that CFTR was downregulated by CAR activation in the intestine. Our findings suggest that CAR has potential as a new drug target for treatment of condition with hyperactivity/hyperfunction of CFTR especially secretory diarrheas.

Keywords : nuclear receptor, xenobiotic sensors, electrolyte transport, chloride channels, diarrhea