

Abstract

Project Code: TRG5680008

Project Title: Investigations of microvillar injury in renal tubular epithelial cells induced by calcium oxalate crystal adhesion

Investigator: Kedsarin Fong-ngern, Ph.D., Medical Proteomics Unit, Office for Research and Development, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

E-mail Address: kedkai010@hotmail.com

Project Period: 2 years

The binding of calcium oxalate monohydrate (COM) crystal frequently results in the destruction of microvilli leading to renal tubular epithelial cell injury and dysfunction in stone patients. This study focused on the investigation of molecular mechanisms implicating in microvillar injuries and disorganization during COM crystal treatment in MDCK cells. Morphology of COM crystal-treated cells (48 h of incubation) was seriously changed as well as microvilli density covering their apical surface was also decreased. We found the reduction of ezrin which plays role in microvilli formation and stabilization in whole cell lysate extracted from COM crystal-treated cells by Western blot analysis. The localization of the remaining ezrin was also changed and concentrated at the lateral boundary of in COM crystal-treated cells under laser scanning confocal microscope. Selectively decreases of ezrin and actin cytoskeleton at the apical membrane were observed together with the loss of their association upon COM crystal exposure by performing Triton X-100 solubility assay. The use of antioxidant chemical, epigallocatechin-3-gallate (EGCG) pretreatment could reduce the degree of protein oxidation and also prevented the reduction and stabilize apical localization of ezrin and actin cytoskeleton after COM crystal treatment under confocal microscope. These findings may provide some important information as a platform to understand the pathogenesis leading to the loss of microvillar functions for a potential therapeutic benefit for kidney stone disease.

Keywords: Kidney stone disease, Calcium oxalate, Microvillar injury, Renal tubular cell dysfunction

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5680008

ชื่อโครงการ: การศึกษาการบาดเจ็บของไมโครวิลไลบนผิวของเซลล์ท่อไตส่วนปลายที่ถูกเกาะจับโดย
ผลึกแคลเซียมออกซาลาเลท

ชื่อหลักวิจัย: ดร.เกศรินทร์ ฟองเงิน สังกัดหน่วยโปรตีนโอมิกส์ทางการแพทย์ สถานส่งเสริมการวิจัย คณะ
แพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address: kedkai010@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

การเกาะจับของผลึกแคลเซียมออกซาลาเลทชนิดโมโนไฮเดรตบนไมโครวิลไลของเซลล์ท่อไตมักเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคนี้ในไต อีกทั้งยังนำไปสู่การบาดเจ็บและการสูญเสียการทำงานของเซลล์ท่อไตที่พบในผู้ป่วยโรคนี้ การศึกษาวิจัยนี้ได้มุ่งเป้าไปยังการสืบค้นหากกลไกที่เกี่ยวข้องในการเกิดการบาดเจ็บและการเกิดพยาธิสภาพของไมโครวิลไลบนผิวของเซลล์ท่อไตส่วนปลาย Madin-Darby Canine Kidney (MDCK) เซลล์ จากการศึกษาวิจัยพบว่าลักษณะและความหนาแน่นของไมโครวิลไลบนผิวของเซลล์ท่อไตหลังจากที่ถูกเกาะจับโดยผลึกแคลเซียมออกซาลาเลทเป็นเวลา 48 ชั่วโมงนั้น มีการเปลี่ยนแปลงและลดลงอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ยังพบว่าระดับการแสดงออกของโปรตีน ezrin ซึ่งเป็นโปรตีนหลักที่ทำหน้าที่สำคัญในการสร้างและรักษาสภาพของไมโครวิลไลนั้นลดลงและมีการเปลี่ยนแปลงย้ายตำแหน่งที่อยู่ในเซลล์ท่อไตหลังจากที่ถูกเกาะจับโดยผลึกแคลเซียมออกซาลาเลท ทั้งนี้ยังพบว่าโปรตีน ezrin และ F-actin ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของไมโครวิลไลได้ลดลงเฉพาะบริเวณที่ผิวเซลล์เท่านั้น นอกจากนี้ได้มีการใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดมาจากชาเขียว epigallocatechin-3-gallate (EGCG) และพบว่าสามารถลดระดับการเกิดออกซิเดชันของโปรตีนพร้อมทั้งสามารถป้องกันการลดลงของโปรตีน ezrin รวมไปถึงสามารถป้องกันการลดลงของโปรตีน ezrin และ F-actin ที่ตำแหน่งผิวเซลล์ท่อไตหลังจากที่ถูกเกาะจับโดยผลึกแคลเซียมออกซาลาเลทได้อีกด้วย การค้นพบนี้อาจให้ข้อมูลสำคัญที่ทำให้เข้าใจกลไกการเกิดโรคนี้ในไตที่นำไปสู่การสูญเสียการทำงานของไมโครวิลไลบนผิวเซลล์ท่อไตที่พบในผู้ป่วย พร้อมทั้งยังมีประโยชน์ในแง่ของการค้นหาวิธีการรักษาและป้องกันการเกิดโรคนี้ในไตได้อีกด้วย

คำหลัก : โรคนี้ในไต, ผลึกแคลเซียมออกซาลาเลท, การบาดเจ็บของไมโครวิลไล, การถูกทำลายของเซลล์ท่อไต