

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



E47394



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทุนวิจัย

กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานวิจัย

การศึกษาการแสดงออกของยีนฟีแลกกกรินอินไวลูคริน
และสปิงค์ห้า ซึ่งมีผลต่อการสร้างผิวหนังชั้นนอกในโรค
ผิวหนังอะโทปีในสุนัข

โดย

กรรณาภรณ์ สุริยผล

มีนาคม 2555



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ทุนวิจัย
กองทุนรัชดาภิเษกสมโภช

รายงานวิจัย

การศึกษาการแสดงออกของยีนฟีแลกกρινอินโวลูคริน
และสปิงค์ห้า ซึ่งมีผลต่อการสร้างผิวหนังชั้นนอกในโรค
ผิวหนังอะโทปีในสุนัข

โดย



กรรณาภรณ์ สุริยผล

มีนาคม 2555

Acknowledgement

We would like to express our grateful thanks to Drs.Tossaporn Nakbed and Jakkaphan Wannawong for sample collections. Special thanks to Assoc. Prof. Tumtip Sangruchi, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol Univeristy for the rotary microtome and to Assist. Prof. Sayamon Srisuwatanasagul, Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University for her kind help in image analysis.

โครงการวิจัย การศึกษาการแสดงออกของยีนฟีแลกกริน, อินโวลูครินและสปีงค์ห้าซึ่งมีผลต่อการ
สร้างผิวหนังชั้นนอกในโรคผิวหนังชนิดอะโทปีในสุนัข

ผู้วิจัย อาจารย์สัตวแพทย์หญิง ดร.กรรณาภรณ์ สุริยผล

ปีที่ทำวิจัยเสร็จ มิถุนายน 2554

บทคัดย่อ

E47394

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากลไกที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของเซลล์คีราติโนไซท์ในสุนัขที่เป็นโรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง จากการเก็บตัวอย่างผิวหนังบริเวณที่มีรอยโรคในสุนัขพันธุ์เล็กที่เป็นโรคดังกล่าวพบลักษณะออร์โรคีราโตติกไฮเปอร์คีราโตซิส (การหนาตัวของผิวหนังชั้นสตราตัมคอร์เนียมโดยพบเซลล์ที่ไม่มีนิวเคลียสอยู่ภายใน) จากการทำอิมมูโนฮิสโตเคมีโดยใช้แอนติบอดีของเคไอ 67 สะท้อนให้เห็นอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์คีราติโนไซท์ในสุนัขป่วยสูงกว่ากลุ่มควบคุม และการเพิ่มจำนวนดังกล่าวมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับดัชนีแสดงความรุนแรงของโรค (CADESI-03) จากการศึกษาการแสดงออกของโปรตีนที่มีผลต่อการเจริญของเซลล์คีราติโนไซท์ อาทิ เคราติน 5 เคราติน 10 อินโวลูคริน ฟีแลกกรินและ เลคตินซึ่งถอดรหัสจากยีนสปีงค์ 5 ในผิวหนังสัตว์ป่วยทั้งส่วนที่เป็นรอยโรค ส่วนที่ไม่เป็นรอยโรค และผิวหนังสัตว์ปกติโดยวิธีอิมมูโนฮิสโตเคมีพบว่าการเพิ่มจำนวนของเคราติน 5 ไปสู่ชั้นสตราตัมสไปโนซัมและการแสดงออกของเคราติน 10 อินโวลูครินและฟีแลกกรินในผิวหนังสัตว์ป่วยทั้งส่วนที่เป็นรอยโรคและส่วนที่ไม่เป็นรอยโรคลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ในทางตรงกันข้ามเลคตินในผิวหนังสัตว์ป่วยส่วนที่เป็นรอยโรคมีการแสดงออกที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม สำหรับความสัมพันธ์กับดัชนีแสดงความรุนแรงของโรค พบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่าง CADESI-03 และเลคติน และพบความสัมพันธ์เชิงลบระหว่าง CADESI-03 และอินโวลูครินซึ่งสอดคล้องกับผลคะแนนการตัดสินจากการทำอิมมูโนฮิสโตเคมี การแสดงออกของยีนเคราติน 5 อินโวลูครินและฟีแลกกรินในผิวหนังสัตว์ป่วยส่วนที่เป็นรอยโรคมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตัวอย่างกลุ่มควบคุมซึ่งตรงกันข้ามกับการแสดงออกของโปรตีน รายงานครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของโปรตีนและเอ็มอาร์เอ็นเออาจไม่สัมพันธ์กันเสมอไป และยังสามารถแสดงเป็นครั้งแรกถึงความสัมพันธ์ของเคราตินและโรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนังในสุนัข และการแสดงออกของอินโวลูครินซึ่งลดลงในโรคดังกล่าว โดยสรุปการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการหนาตัวของเซลล์ผิวหนังชั้นนอกใน

สุนัขที่เป็นโรคผิวหนังแพ้ผิวหนังเป็นผลเนื่องจากการรบกวนโปรแกรมการเจริญและการเพิ่มจำนวน
อย่างผิดปกติของเซลล์ผิวหนัง **E 47394**

Project Title Study the filaggrin, involucrin and SPINK5 gene expression in canine atopic dermatitis
Name Dr. Gunnaporn Suriyaphol
Year May 2010

Abstract.

E 47394

The pathogenic alterations in skin keratinocyte proliferation and differentiation in canine atopic dermatitis (CAD) were investigated. Biopsy of lesional skin of small breed dogs with AD showed orthokeratotic hyperkeratosis. Ki-67 immunohistochemistry (IHC) reflected the higher proliferation rate in the atopic dogs ($P < 0.001$) which positively correlated to Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index, CADESI-03 ($P < 0.001$). The coordinated expression of proteins, involved in keratinocyte differentiation, keratin 5 (K5), K10, involucrin (IVL), filaggrin (FLG) and lympho-epithelial Kazal-type inhibitor (LEKTI), encoded by *SPINK5* gene, were investigated in lesional, non-lesional, and normal skins. IHC labeling indicated an expansion of K5 to S. spinosum with reduced expressions of K10, IVL and FLG in lesional and non-lesional skins ($P < 0.05$). In contrast, LEKTI expression was increased in lesional skin compared to the normal controls. The positive and negative correlations between CADESI-03 and LEKTI and between CADESI-03 and IVL staining scores of lesional skins, respectively, corresponded to the IHC results. However, gene expression of *K5*, *IVL* and *FLG* was upregulated ($P < 0.05$) in lesional skin compared to the control samples. The findings implied variable success of correlation between protein and mRNA expressions. However, this paper reported, for the first time, the association of keratins to CAD and the decreased protein expression of IVL in CAD. In conclusion, the present study

E47394
demonstrated that epidermal hyperplasia in CAD was a result of both disturbed programs
of epidermal differentiation and proliferation.

Table of Contents

Acknowledgement..... ii

บทคัดย่อ.....iii

Abstract..... v

List of Tables..... viii

List of Figures.....ix

1. Introduction..... 1

2. Survey of Related Literature..... 2

3. Procedures.....5

4. Results..... 13

5. Discussion..... 23

6. Conclusion..... 30

7. Suggestion for Further Work..... 30

8. References..... 32

List of Tables

1. Breeds and health status of dogs included in the study..... 7

2. Primers used for reverse transcriptase quantitative PCR..... 12

3. Thickness of epidermis and ratio of S. corneum and nucleated epidermis of non-lesional and lesional skin of dogs with AD..... 15

4. IHC staining scores of K5, K10, IVL, FLG expression by semi-quantitative manual scoring for normal, non-lesional and lesional skin of CAD..... 18

5. Fold change in gene-specific mRNA expression in CAD lesional, CAD non-lesional and control dog skin..... 24