

บทวิจารณ์

การพัฒนาการสร้าง Nephroprogenitor จาก mouse embryonic stem cells/iPS cells

จากงานวิจัยของ Kim และ Dressler 2006 [10] ซึ่งพบว่า mouse embryonic stem cell สามารถกระตุ้นให้กลายเป็น epithelium ของไตได้โดยการกระตุ้น embryoid body ด้วย growth factors ที่จำเป็นในระหว่างการเจริญของไตในระยะ embryo ได้แก่ Activin และ BMP7 แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะใช้ embryonic stem cell เป็นแหล่งของเซลล์ในการสร้าง tubular cell จำนวนมากสำหรับการทดสอบยาและใช้สร้าง bio-artificial kidney ต่อไปเป้าหมายของงานวิจัยนี้คือหาวิธีเพิ่มจำนวนและแยก nephroprogenitor ออกจาก embryoid body โดยตั้งสมมุติฐานว่า cytokine ที่มีส่วนเกี่ยวข้องต่อการ maintain nephroprogenitor ในช่วง embryo development จะสามารถเพิ่ม nephroprogenitor ซึ่งงานวิจัยไม่นานมานี้พบว่าเป็นเซลล์ที่แสดง transcription factor Pax2 และ Six2 [16]

จากการทดลอง พบว่า VEGF ซึ่งในภาวะปกติถูกสร้างที่ ureteric bud และจำเป็นต่อการเกิด glomerular vascularization และการเพิ่มจำนวนของ tubular cell ใน mouse embryo [15] ที่ ระดับ 50 ng/ml สามารถเพิ่มระดับการแสดงออก Pax2 และ Six2 เทียบกับ embryoid body ที่ treated ด้วย Activin และ BMP7 ตามที่มีรายงานเดิม 6 และ 2 เท่าตามลำดับ รวมทั้งเพิ่มจำนวน Pax2+ve และ Six2 +ve cells กลไกการทำงานของ VEGF ในการเพิ่มการแสดงออกของ Pax2 และ Six2 นั้นยังไม่แน่ชัด แต่เป็นไปได้ที่จะเป็น indirect effect ผ่าน endothelial cell ที่ถูก induced ใน embryoid body เนื่องจาก Fik1+cells พบได้น้อยกว่า 0.2 % ของเซลล์ที่พบใน embryoid body เมื่อตรวจสอบโดย FACS และ Fik1+cells มีลักษณะใกล้เคียงกับ vascular endothelial cells ซึ่งเป็นเซลล์อีกชนิดที่จำเป็นต่อ nephrogenesis เป็นเรื่องที่น่าสนใจต่อไปโดยเฉพาะในแง่ interaction กับ progenitor ใน metanephric mesoderm

จากการทดลองว่า mES และ miPS cells ที่กระตุ้นโดย activin RA และ VEGF มีการแสดงออกของ markers ของ nephron ตั้งแต่ระดับ glomerulus ไปจนถึง distal tubule และเมื่อนำไปเพาะเลี้ยงโดย 3T3-BMP4 สามารถ form nephron-like structure แสดงให้เห็นว่า ใน embryoid body ที่ถูกกระตุ้นมี nephron progenitor ปนอยู่ การศึกษาเพื่อหาวิธีการแยก nephron progenitor ออกจากเซลล์ชนิดอื่นๆ ใน embryoid body น่าจะเป็นก้าวต่อไปที่สำคัญที่จะนำไปสู่การสร้าง renal tubular cell อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

การทดลองของเรา ยังแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะนำ GDNF ไปเป็นส่วนประกอบใน induction protocol จากการวิจัยในอดีตซึ่งพบว่า Six2 ควบคุมการแสดงออกของ GDNF [17] ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการเจริญของ ureteric bud ในขณะที่ GDNF ที่ใส่เพิ่มขึ้นไปเพิ่ม level ของ Pax2 expression แต่มีผลของ Six2 expression น้อยกว่าอาจนำไปเพิ่มประสิทธิภาพของ early induction stage นำที่จะต้องศึกษาต่อไป ส่วน FGF2 ในการทดลองของเราไม่ให้ผลที่แน่ชัด BMP2 มีผลน้อยกว่า BMP7 ในการกระตุ้นการสร้าง nephroprogenitor ที่



ระดับ concentration เดียวกันในทุกการทดลอง สอดคล้องกับงานวิจัยที่แสดงว่าผลของ BMP7 ต่อ nephroprogenitor อาจผ่านทาง smad independent ผ่าน JNK pathway [18] ส่วน BMP2/4 อาจ promote mesenchym-epithelial transition ทำให้ cell differentiate เป็น epithelial และสูญเสียคุณสมบัติของ progenitor cell ไป อย่างไรก็ตาม 3T3-BMP4 อาจนำมาใช้ประโยชน์ในการทดสอบ nephrogenic potential ของ ES/iPS –derived potential nephroprogenitor แทนการฉีดเข้าไตของ embryo หนูซึ่งจะเพิ่มประสิทธิภาพในกรรมวิธี screening หาสาร/protocol ในการสร้างและแยก nephroprogenitor ให้เป็น high-throughput screening ได้

การทดสอบโดยใช้ iPS ได้ผลไปในทางเดียวกับของ mouse embryonic stem cells แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะสร้าง nephroprogenitor จากเซลล์ร่างกายทั่วไปของผู้ป่วยเองเพื่อใช้ศึกษากลไกของโรค และอาจพัฒนาไปใช้เพื่อปลูกถ่ายรักษาโรคไตเรื้อรังที่เป็นปัญหาสำคัญของสังคมโดยทั้งนี้กลุ่มกำลังอยู่ระหว่างการพัฒนาปรับปรุง protocol เพื่อนำไปใช้กับ human iPS cells ต่อไป