

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



245900



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การเปลี่ยนเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของหนูไปเป็นเซลล์ไตอ.นพ.ขจร ตีรธนากุล                      จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
[หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน]ศ.นพ.สมชาย เอี่ยมอ่อง                      จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
[ชื่อนักวิจัยที่ปรึกษา]



## กิตติกรรมประกาศ

### ผู้วิจัยขอขอบคุณ

- ผศ.นพ.ดร. นรินทร์ อิศรเสนา ณ อยุธยา หัวหน้าห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิด  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ในการช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ เสนอแนะ ในขั้นตอนของการศึกษาเกี่ยวกับด้านเซลล์ต้น  
กำเนิด รวมถึงการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ ต่างๆในห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิด
- รศ.นพ.เกื้อเกียรติ ประดิษฐ์พรศิลป์ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ในการช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ เสนอแนะ
- น.ส.สุภาพร ครามจันทิก  
ในการให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการทางด้านห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิด
- ห้องปฏิบัติการเซลล์ต้นกำเนิด คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
เป็นสถานที่ หลักในการดำเนินการวิจัย

## Abstract

---

**Project Code :** MRG5180179

**Project Title :** Differentiation of Mouse Embryonic Stem Cells into Renal Epithelia

**Investigator :** Khajohn      Tiranathanagul      Chulalongkorn University

**E-mail Address :** khajohn\_t@hotmail.com

**Project Period :** 15<sup>th</sup> May 2008 – 14<sup>th</sup> January 2011

245900

The need for more advanced therapeutic approaches to renal failure is obvious. Although the current dialysis has changed this deadly disease to non-fatal condition, it is still suboptimal because of the unpleasant long-term survival rate. Regenerative medicine and stem cell therapy are the potential therapeutic option to the kidney disease. However, the first important step to achieve that goal is to find the source of cells and explore their therapeutic potential. This study was conducted to determine the potential method of differentiation mouse embryonic stem cells (ESCs) into renal cells. In this study, we demonstrate that when mouse ESCs were induced to become mesoderm by cultured as embryoid bodies then treated with 10 ng/ml activin A and 0.1 $\mu$ M retinoic acid, adding VEGF to the induction media can increase level of Six2 expression by more than 5 folds compared to control. Real-time RT-PCR analyses showed that transcripts indicative of the presence of renal progenitors, such as Pax2, Sal1, WT1, GDNF, and podocalxin, were also markedly increased with VEGF treatment. Moreover, when the embryonic stem cell-derived mesenchyme were dissociated into single cell then co-cultured with 3T3 cells expressing BMP4, colonies consisting of several types of epithelial cells that exist in glomeruli and renal tubules were observed. Some cells differentiated into kidney-like structure. Our results suggest that VEGF may facilitate the more efficient generation of kidney progenitors from embryonic stem cells.

**Keywords :** embryonic stem cell, renal epithelia, differentiation

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5180179

ชื่อโครงการ การเปลี่ยนเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของหนูไปเป็นเซลล์ไต

ชื่อนักวิจัย อ.นพ.ชจร ตีรณธนากุล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address : khajohn\_t@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ 15 พฤษภาคม 2551 – 14 มกราคม 2554

245900

ปัญหาภาวะโรคไตวายทั้งเฉียบพลันและเรื้อรังเป็นภาวะที่มีอัตราการเสียชีวิตที่สูง แม้ว่ามี การรักษาด้วยการฟอกไตในปัจจุบัน ดังนั้นการพัฒนาการรักษาแบบใหม่ ๆ จึงมีความสำคัญ ซึ่ง ปัจจุบันความก้าวหน้าทางด้านชีววิทยาของเซลล์ โดยเฉพาะ เซลล์ต้นกำเนิดได้จุดประกาย ความหวังในการรักษาโรคด้วยการใช้เซลล์ แต่ขั้นตอนแรกของการรักษาต้องสามารถสร้างเซลล์ ไตขึ้นมาให้ได้ก่อน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีที่จะเปลี่ยนเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของ หนูให้ไปเป็นเซลล์ต้นกำเนิดไต โดยผ่านขั้นตอนการทำเป็นเอ็มบริอยบอดี จากนั้นกระตุ้นการ เปลี่ยนแปลงด้วย แอคติวินเอ กรดเรติโนอิก โดยเติมสารกระตุ้น วิอีจีเอฟ เพิ่มลงไป พบว่า สามารถทำให้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนเปลี่ยนเป็นเซลล์ซึ่งมีการแสดงออกของยีนด้วยวิธีเรียวยาม พีซีอาร์ที่บ่งว่าเป็นเซลล์ไตได้โดย การแสดงออกของยีน Six2 Pax2 Sal1 WT1 และ GDNF เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังยืนยันด้วยการตรวจด้วยวิธีโพลไซโตรเมทรี และการ ย้อมอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ด้วย นอกจากนี้ได้มีการทดลองนำเซลล์ดังกล่าวไปเลี้ยงร่วมกับเซลล์ พีเลี้ยงที่มีการหลั่งบีเอ็มพี4 (3T3 cells expressing BMP4) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงรูปทรงของ กลุ่มเซลล์เป็นลักษณะคล้ายโครงสร้างโกลเมอรูลัสของไต ดังนั้นการศึกษานี้สรุปได้ว่าการใช้สาร กระตุ้นการเจริญเติบโตวีอีจีเอฟ ช่วยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนไป เป็นเซลล์ต้นกำเนิดไตได้