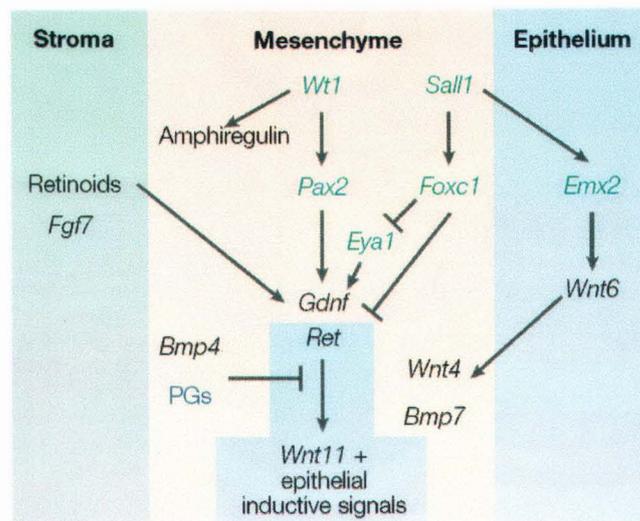


## ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เซลล์ต้นกำเนิดของตัวอ่อน (Embryonic stem cell) เป็นเซลล์ที่มาจาก inner cell mass ของ blastocyst ในช่วงการเจริญเติบโตเพื่อไปเป็นตัวอ่อน (fetus) ซึ่งต่อมาในการเจริญเติบโตจะเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ทุกชนิดในร่างกาย ในการศึกษาในด้านการเจริญเติบโตของไตในตัวอ่อนพบว่าเนื้อไต (renal parenchyma) ก่อกำเนิดมาจากเซลล์ต้นกำเนิดดังกล่าวหลังจากที่แบ่งเป็นเซลล์ในชั้น intermediate mesoderm ในกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า metanephric mesenchyme มี transcription factors หลายตัวที่มีบทบาทสำคัญ[3] ได้แก่ the Wilms' tumor suppressor WT1[4], paired domain protein Pax2 [5], Sall 1 (Sal-like 1) [6], the mammalian homologues of the Drosophila eyes absent and sinaocculus Eya1 [7], the homeobox protein Lim1 [8], และ Emx2 (empty spiracles 2) [9]ซึ่งทั้งหมดประกอบกันมีความเฉพาะเจาะจงกับการก่อกำเนิดของไต ดังตัวอย่างที่แสดงในรูปที่ 1 และ ตารางที่ 1 (Table 1)



รูปที่ 1 Model of genetic interactions during early kidney development

Table 1 | A selection of genes that are essential for early kidney development

Gene name (genotype)	Tissue expressed in*	Phenotype
<b>Transcription factors</b>		
<i>Emx2</i>	UB, MM	Kidneys, UB, genital tract completely missing
<i>Eya1</i>	MM	Absence of UB growth and failure of induction of MM
<i>Foxc1</i>	MM	Two kidneys and double UBs
<i>Foxd1</i>	S	Mutant kidneys are small, few nephrons, fused longitudinally
<i>Pax2</i>	UB, MM	Deficient UB outgrowth, MM uninduced
<i>Rara, Rarb</i>	UB, S, MM	Hypoplasia/agenesis
<i>Sall1</i>	MM	Failure of UB outgrowth
<i>Wt1</i>	MM	MM undergoes unrescuable apoptosis
<b>Growth factors</b>		
<i>Bmp4</i> (het)	MM	Hypo/dysplastic kidneys, hydronephrosis, ectopic uterovesical junction, double collecting duct
<i>Bmp7</i>	UB, MM	Severe hypoplasia with few nephrons and collecting ducts
<i>Fgf7</i>	S	Small kidneys, less UB branches and nephrons
<i>Gdnf</i>	MM	No kidney as UB bud fails to grow
<i>Wnt4</i>	MM	Failure of kidney-tubule formation
<b>Growth factors/receptors</b>		
<i>Gfra1</i>	UB, MM	Agenesis of the kidney as in <i>Ret</i> and <i>Gdnf</i>
<i>Notch2</i>	MM**	Glomerular defects
<i>Ret</i>	UB	Failure of UB growth
<b>Proteoglycans and their biosynthetic enzymes</b>		
<i>Hs2st</i>	UB, MM	Renal agenesis due to lack of UB branching and mesenchymal condensation
<i>Gpc3</i>	UB, MM	Selective degeneration of medullary collecting duct

การจะแสดงออกของ transcription factor ต่างๆดังกล่าวต้องอาศัยการส่งสัญญาณต่างๆทั้งจากนอกเซลล์ และในเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการกระตุ้นเริ่มแรกจาก ureteric buds ซึ่งส่วนหนึ่งของ Wolffian duct เป็น epithelial tissue จากชั้น intermedial mesoderm เช่นกัน การสื่อสารกันระหว่างเซลล์ในการเจริญไปเป็นไตนั้น อาศัย ทั้ง growth factors , growth factor receptors และสารอื่นๆอีกหลายชนิดดังแสดงในตารางที่ 1 การศึกษาโดยไม่นานมานี้ Doyeob K และ Dressler GR[10]ได้แสดงให้เห็นว่า การใช้ BMP7ร่วมกับretinoidsและ mesoderm inducing factor Activinสามารถเปลี่ยน ES cell ไปเป็นเซลล์ซึ่งเปลี่ยนไปเป็นท่อไตได้เมื่อฉีดเข้าไปใน metanephric organ culture แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการที่จะเปลี่ยนเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนให้เจริญไปในแนวทางของไต การศึกษาดังกล่าวใช้ growth factor เพียง 3 ชนิด ทำให้การแสดงออกของเซลล์ไดยังไม่ชัดเจนเท่าที่ควร แต่ในกระบวนการตามธรรมชาติ นั้นสารต่างๆที่ร่างกายใช้มีความสลับซับซ้อนและมีมากมายหลายชนิด ดังนั้นการพัฒนาเพื่อทดสอบการใช้สารชนิดต่างๆจากความรู้ที่ได้มีการศึกษาทางด้าน embryonic development เพิ่มเติมน่าจะเป็นโอกาสในการสร้างเซลล์ที่ใกล้เคียงไตได้มากขึ้น growth factor ที่ผู้วิจัยมีการวางแผนที่จะใช้ในการทดลองได้แก่ BMP7+ retinoids + Activinตามที่มีผู้วิจัยก่อนหน้านี้ รายงาน[10] และที่จะเพิ่มลงไป ได้แก่ Fgf2[11], Gdnf[12], Egf[13] , Hgf[14], VEGF[15] เป็นต้น นอกจากนี้ผู้วิจัยจะวิเคราะห์ชนิดเซลล์ที่ได้จากการทดลองนี้อย่างละเอียดขึ้นว่าเป็นเซลล์

ของไตหรือไม่ และเป็นชนิดไหน เช่น เซลล์ต้นกำเนิดไต, เซลล์ podocyte, proximal tubule, distal tubule, mesangial cell เป็นต้น โดยอาศัยการแสดงออกของ surface marker โดย immunohistochemistry และ การแสดงออกของ RNA expression โดยวิธี RT-PCR

## วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. ศึกษาความเป็นไปได้ของการในการกระตุ้นการเปลี่ยนเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของหนู (mouse embryonic stem cell) ไปเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของไตโดยใช้สารกระตุ้นการเจริญเติบโต (growth factor) ที่เหมาะสม
2. ค้นวิธีที่ดีที่สุดในการกระตุ้นการเปลี่ยนเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของหนู (mouse embryonic stem cell) ไปเป็นเซลล์ต้นกำเนิดของไตเพื่อนำไปใช้ในการรักษาฟื้นฟูภาวะไตวายในอนาคต (regenerative nephrology)
3. เพื่อพัฒนาวิธีการเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนหนูเพื่อนำไปสู่การใช้ในเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนมนุษย์ในอนาคต