

รหัสโครงการ : MRG4980101  
 ชื่อโครงการ : การแสดงออกของมิวซินและบทบาทในการก่อกำเนิดโรคนิวไต  
 ชื่อนักวิจัย : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชานชัย บุญหล้า  
 ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
 E-mail Address : chanchai.b@chula.ac.th  
 ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

**วัตถุประสงค์:** มิวซินเป็นไกลโพรตีนขนาดใหญ่ที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูง ปัจจุบันพบมิวซินในมนุษย์อย่างน้อย 19 ชนิด บทบาทในการก่อกำเนิดและการแสดงออกที่ผิดปกติของมิวซินมีรายงานในโรคนิวไต ภาวะไตและนิวไตในท่อน้ำดี แต่ยังไม่มียารายงานการศึกษาในโรคนิวไต การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบการแสดงออกของมิวซินชนิด MUC1 และ MUC2 ในผู้ป่วยโรคนิวไต และหาความสัมพันธ์กับการอักเสบในไต ภาวะเครียดจากออกซิเดชัน และการทำงานของไต นอกจากนี้เพื่อศึกษาบทบาทของมิวซินที่สกัดจากปัสสาวะต่อการเกาะกลุ่มของฟลิกแคลเซียมออกซาลेट วิธีการ: เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อไต เลือด และปัสสาวะ 24 ชั่วโมง จากผู้ป่วยโรคนิวไต จำนวน 29 ราย ตัวอย่างเนื้อเยื่อไตควบคุมได้จากผู้ป่วยโรคเมเร็งไต จำนวน 6 ราย ทั้งเนื้อเยื่อไตส่วนที่เป็นเมเร็งและส่วนที่ไม่ใช่เมเร็ง สำหรับตัวอย่างปัสสาวะ 24 ชั่วโมงควบคุมได้จากคนปกติ จำนวน 30 ราย ประเมินประสิทธิภาพการทำงานของไต การทำลายเซลล์บุท่อไต และภาวะเครียดจากออกซิเดชัน โดยอาศัยตัวบ่งชี้ creatinine clearance, urinary *N*-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase activity และ urinary 8-hydroxydeoxyguanosine ตามลำดับ วัดปริมาณ mRNA ของ MUC1, MUC2, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) และ interleukin-6 (IL-6) โดยวิธี real time RT-PCR ผลการศึกษา: ผู้ป่วยโรคนิวไตมีภาวะเครียดจากออกซิเดชันและการทำลายเซลล์บุท่อไตสูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ การแสดงออกของ MCP-1 และ IL-6 mRNA ในเนื้อเยื่อไตของผู้ป่วยโรคนิวไตต่ำกว่าในเนื้อเยื่อไตส่วนที่เป็นเมเร็งอย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่แตกต่างจากเนื้อเยื่อไตส่วนที่ไม่ใช่เมเร็ง ผลการย้อมชิ้นเนื้อพบว่าเนื้อเยื่อไตทุกตัวอย่างมีการอักเสบเกิดขึ้น และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวที่แทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อไตสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณการแสดงออกของ MCP-1 และ IL-6 mRNA ในกลุ่มผู้ป่วยโรคนิวไตพบความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของ MCP-1 และ IL-6 mRNA ที่สูงขึ้นกับการทำงานของไตที่ลดลง การแสดงออกของ MUC1 mRNA พบในทุกตัวอย่างเนื้อเยื่อไต ขณะที่เนื้อเยื่อไตที่มีการแสดงออกของ MUC2 mRNA พบได้ 76% (22/29) การศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของ MUC1 และ MUC2 mRNA กับตัวบ่งชี้การอักเสบและภาวะเครียดจากออกซิเดชัน ผลการศึกษามิวซินในปัสสาวะพบว่าการขับออกของ MUC2 ในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิวไตสูงกว่าในกลุ่มคนปกติอย่างมีนัยสำคัญ แต่ระดับของ MUC1 ในปัสสาวะไม่แตกต่างกัน พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับของ MUC2 ในปัสสาวะกับระดับของ MUC2 mRNA ในเนื้อเยื่อไต แสดงว่า MUC2 ในปัสสาวะน่าจะสังเคราะห์จากเซลล์ไต สกัดมิวซินจากตัวอย่างปัสสาวะรวมของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิวไตและกลุ่มคนปกติด้วยวิธีโครมาโตกราฟี (Sepharose CL-2B column) เทวรวม fractions ที่ให้ผลบวกกับ MUC1 antibody ได้ตัวอย่างมิวซิน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ HP1 (ได้จากปัสสาวะรวมของกลุ่มคนปกติ, fractions 27-43), NLP1 (ได้จากปัสสาวะรวมของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิวไต, fractions 5-17) and NLP2 (จากปัสสาวะรวมของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิวไต, fractions 24-40) มิวซิน NLP1 พบเฉพาะในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยโรคนิวไต และมีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่า มีปริมาณ MUC2 มากกว่า แต่มีปริมาณ MUC1 และกรดเซียลิกน้อยกว่า HP1 และ NLP2 ผลการทดสอบการเกาะกลุ่มของฟลิกพบว่า NLP1 มีค่าสัมประสิทธิ์การเกาะกลุ่มสูงกว่าทั้ง HP1 และ NLP2 อย่างมีนัยสำคัญ สรุป: มีการอักเสบเกิดขึ้นในไตของผู้ป่วยโรคนิวไต การแสดงออกของ MCP-1 และ IL-6 มีส่วนเกี่ยวข้องกับการดำเนินของโรคนิวไต ผู้ป่วยโรคนิวไตมีระดับ MUC2 ในปัสสาวะสูงกว่าปกติอาจมีแหล่งกำเนิดมาจากไตที่เป็นนิวไต มิวซิน NLP1 ซึ่งไม่พบในปัสสาวะของคนปกติสามารถกระตุ้นการเกาะกลุ่มของฟลิกแคลเซียมออกซาลेटได้ดี ดังนั้น การมีมิวซินขนาดใหญ่แต่ประจุลบต่ำ (NLP1) ในปัสสาวะอาจจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดนิวไตและเร่งการเจริญของก้อนนิวไต

**Objectives:** Mucins are large molecular weight glycoproteins containing numerous O-linked glycans. At least 19 human mucin (MUC) genes have been identified. Overproduction and lithogenic function of mucins have been demonstrated in cholecystolithiasis and hepatolithiasis while in nephrolithiasis (NL) there has not been explored. The present study was aimed to investigate the intrarenal and urinary expression of MUC1 and MUC2 in patients with NL, and assess their associations with intrarenal inflammation, oxidative stress and renal dysfunction. In addition, role of urinary mucins in calcium oxalate (CaOx) crystal aggregation was examined. **Methods:** Renal biopsies from near the stone, and blood and 24-h urine specimens were collected from 29 patients with nephrolithiasis. Control renal tissues were taken from non-cancerous and cancerous portions of nephrectomy from six patients with renal cancers, and control 24-h urine samples were obtained from 30 healthy subjects. Creatinine clearance, urinary *N*-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase activity and urinary 8-hydroxydeoxyguanosine were determined as markers for glomerular dysfunction, renal tubular injury and oxidative stress, respectively. Messenger RNA expressions of MUC1, MUC2, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and interleukin-6 (IL-6) in the renal tissues were measured by real time RT-PCR. **Results:** NL patients had significantly higher oxidative stress and renal tubular injury than the healthy controls. Intrarenal mRNA expressions of MCP-1 and IL-6 in stone-adjacent renal tissues were significantly lower than in cancerous renal tissues, but not statistically different from that in non-cancerous renal tissues. Histological examination showed that all renal sections were inflamed and the number of infiltrated leukocytes corresponded well with the intrarenal mRNA levels of MCP-1 and IL-6. In NL patients, a greater intrarenal mRNA expression of MCP-1 and IL-6 was associated with enhanced renal impairment. MUC1 mRNA was positive in all stone-adjacent renal sections whereas MUC2-positive renal tissues were accounted for 76% (22/29). Associations of MUC1 and MUC2 expressions with intrarenal inflammation and oxidative stress biomarkers in NL patients were not observed. Urinary excretion of MUC2 in NL patients was significantly higher than that in healthy controls, but MUC1 was not. Level of urinary MUC2 significantly correlated to its mRNA level in renal tissues. Urinary mucins were partially purified from pooled healthy and NL urines by Sepharose CL-2B gel filtration. MUC1-positive CL-2B fractions were pooled and named HP1 (for healthy pool, fractions 27-43), NLP1 (for nephrolithiasis pool, fractions 5-17) and NLP2 (nephrolithiasis pool, fractions 24-40). NLP1 material was presented only in NL pooled urine. Compared to HP1 and NLP2, NLP1 mucins had larger size, higher amount of MUC2 but lower in MUC1 and sialic acid contents. The crystal aggregation assay revealed that NLP1 had an aggregation coefficient significantly higher than HP1 and NLP2. **Conclusion:** There was an active intrarenal inflammation in NL patients. The expression of MCP-1 and IL-6, at least in part, contributed to the progression of kidney stone disease. Urinary MUC2 excretion was elevated in NL patients, and may be originated from the stone-affected kidneys. NLP1, which was not found in healthy urine, promoted the aggregation of CaOx crystals. Thus, the presence of large and low-negative-charge mucins (NLP1) in urine may increase stone-forming potential and accelerate the growth of stone.