

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

กระดูกเป็นอวัยวะหนึ่งของสัตว์มีกระดูกสันหลังซึ่งรวมถึงมนุษย์ ที่มีทำหน้าที่หลากหลาย เช่น เป็นโครงสร้างสำหรับการเคลื่อนไหวส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย เป็นแหล่งสะสมแร่ธาตุที่จำเป็นต่อเมแทบอลิซึมของร่างกาย เช่น แคลเซียมและฟอสฟอรัส เป็นโครงสร้างสำคัญสำหรับป้องกันอันตรายต่อไขกระดูก (bone marrow) ในสภาวะปกติกระดูกจะมีการเปลี่ยนแปลงแบบพลวัต (dynamic) ของมวลและโครงสร้างอยู่ตลอดเวลา ตามการเปลี่ยนแปลงสภาวะต่าง ๆ ของร่างกาย แต่ในบางสภาวะ ความสมดุลของการสร้างและการทำลายกระดูกสูญเสียไป ซึ่งจะทำให้เกิดพยาธิสภาพตามมา เช่น ในสภาวะที่มีการสร้างกระดูกน้อยเกินหรือทำลายมากเกินไปทำให้เกิดโรคหรือภาวะทางระบบ เช่น โรคกระดูกและข้อต่ออักเสบ (osteoarthritis), โรคกระดูกอ่อน (rickets), ภาวะกระดูกพรุน (osteoporosis) เป็นต้น เซลล์สลายกระดูกเป็นเซลล์ชนิดหนึ่งในกระดูก ซึ่งทำหน้าที่ในการสลายแร่ธาตุและสารอินทรีย์ของกระดูก ในสภาวะปกติ (physiologic condition) เซลล์สลายกระดูกพัฒนามาจากโมโนไซต์ที่มาจากเซลล์ไขกระดูก โดยถูกควบคุมจากเซลล์สร้างกระดูก (osteoblast) ซึ่งในการทำงานร่วมกันกับเซลล์สร้างกระดูกจะทำให้เกิดการปรับแต่ง (remodeling) ของกระดูก เพื่อใช้ในการพัฒนารูปร่างและโครงสร้างของกระดูกในระยะที่ร่างกายมีการเจริญเติบโต แต่ในสภาวะที่มีการกระตุ้นจากการอักเสบ (Inflammation) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีการติดเชื้อร่วมด้วย จะทำให้กระดูกมีการสลายตัวมากกว่าปกติ เช่น ที่เกิดในโรคปริทันต์อักเสบ (periodontitis) ที่เกิดการติดเชื้อบริเวณปลายรากฟัน หรือที่เกิดการอักเสบในกระดูก (osteomyelitis) เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม ณ ปัจจุบัน ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดถึงกลไกของการติดเชื้อและการอักเสบในเนื้อเยื่ออันนำไปสู่การสลายกระดูก จึงอาจเป็นไปได้ว่าเพ็พไทด์ด้านจุลชีพ โดยเฉพาะแอลแอล-37 ที่สร้างขึ้นมาเพื่อตอบสนองต่อการติดเชื้อและการอักเสบจะมีบทบาทต่อกระบวนการสลายกระดูกดังกล่าว โดยมีผลต่อกระบวนการแปรสภาพของเซลล์สลายกระดูกก็เป็นได้ ดังนั้น การศึกษาวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาหาปัจจัยและกระบวนการที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของกระดูกที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการป้องกันตนเองจากการติดเชื้อและการอักเสบ

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แอลแอล-37 เป็นเพปไทด์ต้านจุลชีพตัวหนึ่งในตระกูลแคเทลิซิน (cathelicidin) ที่สามารถพบได้ในบริเวณเนื้อเยื่อที่มีการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวและชั้นเซลล์เยื่อบุผิวเหงือก (Dale et al., 2001; Zanetti, 2004) เพปไทด์ต้านจุลชีพแอลแอล-37 มีฤทธิ์ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่บริเวณอวัยวะปริทันต์หลายชนิด (Ji et al., 2007; Ouhara et al., 2005) อย่างไรก็ตามแอลแอล-37 ไม่ได้มีฤทธิ์เพียงแต่การทำลายเชื้อจุลินทรีย์เท่านั้น บทบาทของแอลแอล-37 ยังมีผลต่อการทำงานของระบบต่างๆ ภายในร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นการควบคุมกลไกการทำงานในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Bowdish et al., 2006) การชักนำให้เกิดการสร้างหลอดเลือดใหม่ ตลอดจนส่งเสริมการหายของบาดแผล (Carretero et al., 2008; Heilborn et al., 2003; Koczulla et al., 2003; Shaykhiev et al., 2005) มีการศึกษาที่แสดงถึงการแสดงออกที่ผิดปกติของแอลแอล-37 เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น ผู้ที่มีกลุ่มอาการ Morbus-Kostman ซึ่งมีจำนวนเม็ดเลือดขาวนิวโทรฟิลล์ลดลง ทำให้แอลแอล-37 ขาดแคลนตามไปด้วยนั้นมีความสัมพันธ์ต่อการติดเชื้อที่อวัยวะปริทันต์และนำไปสู่การสลายกระดูกเข้าฟันได้อย่างรวดเร็ว (Carlsson et al., 2006; Putsep et al., 2002) จากนั้นได้มีการศึกษาต่อไปถึงระดับการแสดงออกของแอลแอล-37 ต่อความรุนแรงของโรคปริทันต์ โดยพบว่าแอลแอล-37 มีระดับการแสดงออกลดลงอย่างมากในโรคปริทันต์อักเสบรุนแรง (aggressive periodontitis) ซึ่งเป็นโรคที่มีอัตราการทำลายกระดูกเข้าฟันเร็ว (Puklo et al., 2008) จึงสันนิษฐานได้ว่าแอลแอล-37 น่าจะมีบทบาทในการยับยั้งการสลายกระดูกโดยไปขัดขวางการแปรสภาพหรือการทำหน้าที่ของเซลล์สลายกระดูก

กระดูกเป็นอวัยวะในร่างกายที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพ (remodeling) อยู่ตลอดเวลาโดยอาศัยการทำงานของเซลล์กระดูกสองชนิด ได้แก่ เซลล์สร้างกระดูกและเซลล์สลายกระดูกเป็นหลัก เมื่อกลไกความคุมการเปลี่ยนแปลงกระดูกมีความผิดปกติไปเช่น มีอัตราการสลายกระดูกมากกว่าอัตราการสร้างกระดูกอาจทำให้เกิดพยาธิสภาพเกิดขึ้น เช่น ภาวะกระดูกพรุน กระดูกข้ออักเสบ หากพบการทำลายกระดูกที่กระดูกเข้าฟันจะเป็นสาเหตุที่ทำให้สูญเสียฟันได้ เซลล์สลายกระดูกมีการพัฒนามาจากเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดเลือด โดยผ่านทาง การพัฒนามาจากโมโนไซต์และแมคโครฟาจที่ได้รับการกระตุ้นโดยสารกระตุ้นการแปรสภาพเซลล์ที่เรียกว่า macrophage-colony stimulating factor และ receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL) (Jimi et al., 1999; Tanaka et al., 1993a) เซลล์เดนไดรต์ที่พัฒนามาจากเซลล์ต้นกำเนิดเม็ด

เลือดเช่นกัน ได้มีผู้ทำการศึกษาถึงการยับยั้งการแปรสภาพของเซลล์เดินไดรท์ติกโดยแอลแอล-37 (Kandler et al., 2006)

แต่อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีการศึกษาใดๆที่แสดงบทบาทของแอลแอล-37 ต่อการสร้างหรือการทำงานของเซลล์สลายกระดูก จึงยังไม่สามารถอธิบายถึงกลไกการสลายกระดูกในผู้ที่มีความผิดปกติของแอลแอล-37 ได้ ดังนั้นการศึกษาวินิจฉัยนี้จึงมุ่งเพื่อค้นคว้าหาบทบาทของแอลแอล-37 ต่อการพัฒนาและการทำหน้าที่ของเซลล์สลายกระดูก

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเป็นพิษของเพ็พไทด์ต้านจุลชีพแอลแอล-37 ต่อเซลล์ต่อเซลล์โมโนไซต์
2. เพื่อศึกษาถึงผลของเพ็พไทด์ต้านจุลชีพแอลแอล-37 ต่อการแปรสภาพของเซลล์โมโนไซต์ไปเป็นเซลล์สลายกระดูก โดยศึกษาถึงตัวบ่งชี้ของเซลล์สลายกระดูก ตลอดจนการทำงานของเซลล์ดังกล่าว
3. เพื่อศึกษาวิธีสื่อสัญญาณที่เปลี่ยนแปลงไป หลังจากกระตุ้นเซลล์โมโนไซต์ด้วยเพ็พไทด์ต้านจุลชีพแอลแอล-37 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีสื่อสัญญาณภายในเซลล์ที่ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยแอลแอล-37