

อภิปรายผลการทดลอง

ในการศึกษานี้เป็นการแสดงฤทธิ์ของเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 ต่อการยับยั้งการแปรสภาพไปเป็นเซลล์สลายกระดูกโดยการขัดขวางกระบวนการรวมเซลล์เพื่อเป็นเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ที่มีหลายนิวเคลียสและการแสดงออกของ TRAcP เพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 ยังมีฤทธิ์ต่อกระบวนการสร้างเซลล์สลายกระดูกโดยลดระดับการแสดงออกของยีนจำเพาะต่อเซลล์สลายกระดูกได้แก่ *CLC-7* และ *TCIRG1* อีกทั้งยังเป็นสาเหตุที่ทำให้มีการแสดงออกของ *NFAT2* ภายในนิวเคลียสซึ่งอาจส่งผลต่อการแสดงออกของยีนจำเพาะต่อเซลล์สลายกระดูกตัวอื่นตามมาอันเป็นผลขัดขวางการทำหน้าที่สลายกระดูก

การวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำมีฤทธิ์ที่คล้ายคลึงกับ *M-CSF* ในการคงความมีชีวิตของเซลล์โมโนไซต์ ตามที่การศึกษาฤทธิ์ของ *M-CSF* ในอดีตที่เป็นโมเลกุลที่จำเป็นต่อการคงความมีชีวิตของเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์สลายกระดูกที่พัฒนาผ่านทางเซลล์โมโนไซต์ (Jimi et al., 1999; Tanaka et al., 1993b) จากการศึกษาการทำหน้าที่ของ *m-csf* ในหนูทดลองพบว่าหนูที่ถูกกำจัดพันธุกรรมของยีน *csf1* แสดงลักษณะฟีโนไทป์ที่เรียกว่า ออสติโอเพโรซิส (osteopetrosis) ซึ่งมีมวลกระดูกมากกว่าหนูปกติหลายเท่า ทั้งนี้เป็นผลมาจากการขาดแคลนเซลล์สลายกระดูก (Umeda et al., 1996) จากการศึกษาที่มี การศึกษาฤทธิ์ต่อต้านกระบวนการตายของเซลล์ของเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 และ *M-CSF* นั้น มีความสอดคล้องกันโดยพบการกดยับยั้งการกระตุ้นการทำหน้าที่ของ caspase-3 (Chamorro et al., 2009; Woo et al., 2002) อย่างไรก็ตามเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 อาจส่งผลต่อการคงความมีชีวิตของเซลล์ในทางอ้อม เพราะเคยพบว่าเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 สามารถกระตุ้นเซลล์สายพันธุ์ RAW264.7 ให้มีการสร้าง *M-CSF* ได้ (Scott et al., 2002)

การวิจัยนี้ได้ศึกษาระดับความเป็นพิษของเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 ต่อเซลล์ต้นกำเนิดของเซลล์สลายกระดูก พบว่าเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 ที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า 10 ไมโครโมลาร์ไม่ก่อให้เกิดการตายของเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับระดับความเข้มข้นที่มากกว่าหรือเท่ากับ 20 ไมโครโมลาร์ ซึ่งมีผลไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาในอดีตพบว่าเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 มีความเป็นพิษต่อเซลล์ยูแคริโอตโดยการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์เมื่อมีระดับความเข้มข้นที่ 13 ไมโครโมลาร์ (Johansson et al., 1998)

มีการศึกษาฤทธิ์ของเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างเนื้อเยื่อที่มีการสะสมแร่ธาตุ โดยเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37จะไปกระตุ้นให้เซลล์โมโนไซต์สามารถแปรสภาพไปเป็นเซลล์ที่มีศักยภาพในการสะสมแร่ธาตุที่ถูกเสนอให้เซลล์ชนิดนี้เรียกว่าโมโนออสติโอฟิลล์ (Monoosteophils) (Zhang and Shively) ในการศึกษาที่ยังพบว่าเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37ที่ระดับความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์สามารถกระตุ้นให้มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์โมโนไซต์ในอัตราที่รวดเร็วและมีการถูกยับยั้งโดยวิธี von Kossa ที่มากขึ้นทั้งๆที่ถูกเลี้ยงให้อยู่ในสภาวะที่มีการกระตุ้นให้เซลล์นั้นมีการแปรสภาพไปเป็นสลายกระดูกโดย M-CSF และ RANKL แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษารังนั้นไม่ได้มีการแสดงบทบาทของเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37ต่อเซลล์สลายกระดูกแต่อย่างใด ทั้งนี้ยังไม่เคยมีการศึกษาใดๆที่อ้างถึงการแปรสภาพของโมโนไซต์ไปเป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการสะสมแร่ธาตุมาก่อนหน้านี้

ทางผู้วิจัยได้พบว่าปริมาณเซลล์หลายนิวเคลียสลดลงจากการกระตุ้นโดยเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 ที่ระดับความเข้มข้นที่ปลอดภัยต่อเซลล์ภายใต้สภาวะที่มีการชักนำให้เกิดเซลล์สลายกระดูกนั้นเป็นผลมาจากการขัดขวางขั้นตอนการเชื่อมเซลล์โมโนไซต์หลายตัวรวมกัน (Cell fusion) ทั้งนี้เคยมีการศึกษากลไกการเชื่อมเซลล์โดยผ่านทางตัวรับสัญญาณ purinergic $P2X_7$ ที่ผิวเซลล์แล้วไปมีผลต่อการเพิ่มระดับ adenosine ภายนอกเซลล์ (Pellegatti et al.) ถึงแม้ว่าจะมีการศึกษาที่เคยแสดงให้เห็นว่าเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 สามารถกระตุ้นตัวรับสัญญาณ G-protein coupled formyl peptide receptor-like 1 ที่บนผิวเซลล์โมโนไซต์แล้วนำไปสู่เพียงทำให้ดึงดูดเซลล์เคลื่อนที่มา (Chemotactic effect) เท่านั้น (De et al., 2000) จึงถูกสันนิษฐานได้ว่า purinergic $P2X_7$ อาจเป็นตัวรับสัญญาณของเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 บนเซลล์โมโนไซต์ ตัวรับสัญญาณที่ผิวเซลล์โมโนไซต์ที่น่าจะถูกกระตุ้นจากเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 ได้อีกตัวคือ Toll-like receptor เพราะเคยมีการศึกษาที่พบว่าเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 สามารถยับยั้งการแปรสภาพไปเป็นเซลล์เดนไดรต์ที่มาจากเซลล์โมโนไซต์โดยเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 ไปขัดขวางการกระตุ้น Toll-like receptor ligands ที่ผิวเซลล์ (Kandler et al., 2006) ทั้งนี้เพราะการพัฒนาไปเป็นเซลล์สลายกระดูกนั้นต้องอาศัยกระบวนการยับยั้งจากการกระตุ้นโดย Toll-like receptor-9 ligand (Amcheslavsky and Bar-Shavit, 2007) ดังนั้นเพปไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 อาจจะไปยับยั้งกระบวนการสร้างเซลล์สลายกระดูกโดยการกระตุ้น Toll-like receptor-9 ด้วยก็เป็นได้

NFAT2 เป็น transcription factor ที่จำเป็นต่อการพัฒนาไปเป็นเซลล์สลายกระดูกที่ถูกกระตุ้นจาก RANKL แล้วส่งผลให้มีการแสดงออกของยีนจำเพาะของเซลล์สลายกระดูกจำนวนหลายยีน (Takayanagi et al., 2002) รวมทั้งตัว NFAT2 เองด้วย กระบวนการที่ NFAT2 สามารถจับในตำแหน่ง promoter ต่อ NFAT2 ซึ่งไปกระตุ้นให้ NFAT2 มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นนั้นถูกเรียกว่า autoamplification (Chuvpilo et al., 2002) จากการศึกษาของคณะผู้วิจัยพบว่า เพ็พไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 มีฤทธิ์ในการขัดขวางการเข้าไปแสดงออกของ NFAT2 ภายในนิวเคลียสนั้นจะส่งผลต่อการลดระดับการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและทำหน้าที่ของเซลล์สลายกระดูก

ในช่องปากเพ็พไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 สามารถถูกตรวจพบได้ที่บริเวณร่องเหงือก (gingival crevicular fluid) (Puklo et al., 2008) ซึ่งต่อได้มีการศึกษาถึงระดับปริมาณเพ็พไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 กับชนิดของโรคปริทันต์ พบว่าโรคปริทันต์ที่มีความรุนแรงของโรคสูง (aggressive periodontitis) ซึ่งอาจมีภาวะการทำลายกระดูกหักรากฟันในอัตราที่รวดเร็วมีระดับเพ็พไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 ต่ำกว่าโรคปริทันต์อักเสบเรื้อรัง (Turkoglu et al., ; Turkoglu et al., 2009) ทั้งนี้สอดคล้องกับการค้นพบของคณะผู้วิจัยที่พบว่าเพ็พไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 มีฤทธิ์ด้านการสร้างเซลล์สลายกระดูก ดังนั้นในสถานะที่มีเพ็พไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 น้อยจึงส่งผลให้เกิดการชักนำให้เกิดการสร้างเซลล์สลายกระดูกไปตามปกติเมื่อมีการกระตุ้นจากกระบวนการอักเสบ ทางคณะผู้วิจัยเห็นว่าเพ็พไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 เข้ามามีบทบาทต่อเมตะบอลิซึมของกระดูกเมื่อมีการทำลายกระดูกในโรคปริทันต์อักเสบรุนแรง เพ็พไทด์ด้านจุลชีพแอลแอล-37 จึงน่าจะถูกนำไปพัฒนาต่อไปเพื่อนำมาใช้เป็นโมเลกุลในการรักษาโรคปริทันต์อักเสบรุนแรงหรือตลอดจนโรคที่มีการทำลายกระดูกอื่นๆ