

**THE ROLE OF LIVER X RECEPTORS (LXR<sub>s</sub>) IN CADMIUM-INDUCED NEPHROTOXICITY**

SOMSAK FONGSUPA 5136167 SCTX/D

Ph.D. (TOXICOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: SUNHAPAS SOODVILAI, Ph.D., VARANUJ CHATSUDTHIPONG, Ph.D., CHATCHAI MUANPRASAT, M.D., Ph.D.

**ABSTRACT**

Liver X receptors (LXRs) including LXR $\alpha$  and LXR $\beta$  are members of the nuclear receptor superfamily of ligand-activated transcription factors, which are normally expressed in high metabolic organs such as liver, adipose tissues, and kidney. Recent evidence demonstrated that LXRs have anti-inflammatory and antioxidant effects in tissues of several organs induced by oxidative agents. Cadmium-induced cell death in several cell types is mediated by reactive oxidative species (ROS) generation and JNK activation. Therefore, this study was aimed to investigate the effects of LXR activation and the underlying mechanisms on the cadmium-induced cell death in human renal proximal tubular cells. The result showed that treatment of HK-2 cells with 20  $\mu$ M CdCl<sub>2</sub> for 24 hours led to cell death via apoptosis but not necrosis. Interestingly, pretreatment of HK-2 cells with T0901317, an LXR agonist, significantly inhibited the apoptotic cell death induced by CdCl<sub>2</sub>. The protective effect of T0901317 was eliminated by coincubation with fenofibrate, an LXR antagonist, indicating that the effect of T0901317 on cadmium-induced apoptotic cell death was mediated by LXR activation. In addition, the effect of CdCl<sub>2</sub> was attenuated by a reactive oxygen species (ROS) scavenger, N-acetyl-L-cysteine (NAC). It was found that an increase in ROS induced by CdCl<sub>2</sub> was mediated by inhibition of catalase (CAT) but not superoxide dismutase (SOD) which was attenuated by T0901317. In addition, the effect of CdCl<sub>2</sub> on cell death was involved the up-regulated NAD(P)H dehydrogenase/ NADH: quinone oxidoreductase-1 (NQO1) expression which was blocked by NAC. This indicated that NQO1 induction by cadmium was downstream of ROS generation. Western blot analysis revealed that CdCl<sub>2</sub> stimulated expression of c-jun N-terminal kinase (JNK) phosphorylation. The stimulation was inhibited by NAC, indicating the induction of JNK phosphorylation was downstream of ROS production. Moreover, the increases of ROS and JNK phosphorylation induced by CdCl<sub>2</sub> were attenuated by LXR activation.

In conclusion, this study provided the first evidence showing that LXR activation could reduce cadmium-induced apoptotic cell death of human renal proximal tubular cells by inhibition of ROS production and JNK activation.

**KEY WORD:** CADMIUM / LIVER X RECEPTORS / REACTIVE OXIDATIVE SPECIES / JNK SIGNALING / CATALASE /

127 pages

บทบาทของนิวเคลียร์รีเซพเตอร์ชนิดแอลเอกซ์อาร์ต่อการเกิดพิษของไตที่ถูกเหนี่ยวนำโดยสารแคดเมียม  
THE ROLE OF LIVER X RECEPTORS (LXRs) IN CADMIUM-INDUCED NEPHROTOXICITY

สมศักดิ์ ฟองสุภา 5136167 SCTX/D

ปร.ค. (พิษวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: สันทกาส สุควิตย, ปร.ค., วรนุช นัทรสุทธิพงษ์, Ph.D., นัทรชัย เหมือน  
ประสาทม, พ.บ., ปร.ค.

#### บทคัดย่อ

นิวเคลียร์รีเซพเตอร์ชนิดแอลเอกซ์อาร์ (LXRs) ซึ่งเป็นสมาชิกของกลุ่มสารนิวเคลียร์รีเซพเตอร์ที่ควบคุมกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ประกอบด้วยสมาชิก 2 ชนิดได้แก่ อัลฟาและเบต้า โดยพบมากในอวัยวะที่มีเมตาบอลิซึมสูงเช่น ตับ เนื้อเยื่อไขมันและไต ปัจจุบันพบว่านิวเคลียร์รีเซพเตอร์ชนิดนี้มีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการต่อต้านการอักเสบและด้านการเกิดอนุมูลอิสระในเนื้อเยื่อของหลายอวัยวะ ในโรคไตที่เกิดจากพิษของสารแคดเมียมพบว่าแคดเมียมกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระ (ROS) และ กระตุ้นการทำงานของโปรตีน JNK (JNK phosphorylation) ซึ่งจะทำให้เกิดการตายของเนื้อเยื่อ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการทดสอบบทบาทและกลไกการทำงานของแอลเอกซ์อาร์ ต่อการเกิดพิษของสารแคดเมียมในเนื้อเยื่อของเซลล์หลอดไตส่วนต้น จากการศึกษาการทำให้เกิดพิษของสารแคดเมียมต่อเซลล์ (cytotoxicity) โดยวิธี MTT assay และตรวจยืนยันด้วยวิธี flow cytometry พบว่าการเกิดพิษของสารแคดเมียมทำให้เซลล์ตายแบบ apoptosis แต่ไม่เกิดการตายแบบ necrosis และพบว่าพิษที่เกิดพิษนี้ถูกยับยั้งด้วยสารกระตุ้นแอลเอกซ์อาร์รีเซพเตอร์ T0901317 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม การป้องกันการเกิดพิษจากสารแคดเมียมของ T0901317 นี้จะถูกยับยั้งด้วยสาร fenofibrate ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านการทำงานของนิวเคลียร์รีเซพเตอร์ชนิดแอลเอกซ์อาร์ จึงแสดงว่าฤทธิ์ของ T0901317 ในการป้องกันการเกิดพิษของสารแคดเมียมอาศัยการกระตุ้นแอลเอกซ์อาร์ นอกจากนี้พบว่าสารแคดเมียมสามารถกระตุ้นการแสดงออกของโปรตีน p-JNK และถูกยับยั้งด้วยสาร N-acetyl-L-cysteine (NAC) ดังนั้นแสดงว่าการกระตุ้นการทำงานของ JNK โดยสารแคดเมียมเป็นผลจากการสร้าง ROS และพบว่าพิษที่เกิดการสร้าง ROS โดยสาร T0901317 เป็นผลมาจาก T0901317 ไปกระตุ้นการแสดงออกของเอนไซม์ catalase และยังคงพบว่า T0901317 สามารถลดการกระตุ้นการแสดงออกของโปรตีน p-JNK ได้โดยตรง ดังนั้นจากการศึกษาจึงสรุปได้ว่าการกระตุ้นแอลเอกซ์อาร์รีเซพเตอร์สามารถลดการเกิดพิษของสารแคดเมียมต่อเซลล์ไตโดย 1) ลดการสร้าง ROS โดยกระตุ้นการแสดงออกของ CAT 2) ยับยั้งการแสดงออกของโปรตีน p-JNK และผลการศึกษาครั้งนี้เป็นการรายงานครั้งแรกที่แสดงให้เห็นถึงบทบาทแอลเอกซ์อาร์รีเซพเตอร์ต่อการพิษของไตที่ถูกเหนี่ยวนำโดยสารโลหะหนัก อันจะเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนา การรักษาพิษของสารแคดเมียมต่อไตได้ในอนาคต