

## Abstract

---

**Project Code :** TRG5480005

**Project Title :** Protective effect of green tea extract against oxalate-induced changes in renal tubular cells: possibility for prevention of renal fibrosis

**Investigator :** Rattiyaporn Kanlaya (Ph.D.), Medical Proteomics Unit, Mahidol University

**E-mail Address :** r.kanlaya@gmail.com

**Project Period :** 2 years

This study aims to apply a natural compound to prevent the process of epithelial mesenchymal transition (EMT) induced by oxalate treatment. Sodium oxalate was used to induce tubular cell injury and EMT in Mardin-Darby Canine kidney (MDCK) cell line. Oxalate exposure is known to induce cellular injury and presumed to be involved in the pathogenesis of calcium oxalate stone formation. Epigallocatechin gallate (EGCG) extracted from green tea (*Camellia Sinensis*) was assessed for its anti-fibrotic and anti-oxidative property. EGCG is the most abundant polyphenol compounds found in green tea with high potential anti-oxidative property. Microscopic examination revealed that oxalate could induce morphological change of MDCK from a cobble-stone like into fibroblast-like shape within 24 h. In addition, immunoblotting and indirect immunofluorescence assay confirmed that oxalate-treated cells gained mesenchymal phenotypes by increase expression of vimentin and fibronectin while decrease expression of epithelial markers including, E-cadherin, cytokeratin, occludin, and ZO-1. Interestingly, pretreatment of MDCK cells with 25  $\mu$ M EGCG could prevent EMT induced by oxalate exposure as it could retain typical epithelial cell morphology as well as epithelial protein markers. The molecular mechanism underlying the prevention of EGCG is most likely by reduction of intracellular reactive oxygen species (ROS) production. Taken together, this study demonstrated a preventive effect of EGCG against oxalate-induced EMT in renal tubular cells which would shed light on the development of novel therapeutics of renal fibrosis in the near future.

**Keywords :** Epithelial mesenchymal transition, Oxalate, EGCG, Renal fibrosis

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5480005

ชื่อโครงการ: ฤทธิ์ของสารสกัดจากชาเขียวในการป้องกันการเปลี่ยนแปลงในเซลล์ท่อไตที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของอ็อกซาลเอท

ชื่อนักวิจัย: ดร.รัตติยาภรณ์ กัลยา สังกัดหน่วยโปรตีนโอมิกส์ทางการแพทย์ สถาบันส่งเสริมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

E-mail Address : r.kanlaya@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อใช้ในการป้องกันการเปลี่ยนแปลงในเซลล์ท่อไตที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของอ็อกซาลเอท การศึกษาก่อนหน้านี้รายงานว่าอ็อกซาลเอทเป็นสารที่สามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์บาดเจ็บได้และคาดว่าภาวะนี้เป็นกลไกหนึ่งที่น่าไปสู่การเกิดพยาธิสภาพของโรคนี้ในไตชนิดแคลเซียมอ็อกซาลเอท ในการศึกษาครั้งนี้จึงใช้โซเดียมอ็อกซาลเอทเหนี่ยวนำให้เซลล์ท่อไตบาดเจ็บและเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงจาก epithelial ไปเป็น mesenchymal (Epithelial mesenchymal transition หรือ EMT) และทดสอบฤทธิ์ของ Epigallocatechin gallate (EGCG) ซึ่งเป็นสาร polyphenol ที่พบมากในชาเขียว และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Anti-oxidant) ว่าสามารถต้านการเกิดพังผืด (Anti-fibrotic property) และต้านอนุมูลอิสระในสภาวะนี้ได้หรือไม่ ผลการทดลองพบว่าโซเดียมอ็อกซาลเอทสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัญญาณวิทยาของเซลล์ท่อไตให้คล้ายกับเซลล์ fibroblast ได้ภายใน 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ผลการแสดงออกของโปรตีนโดยวิธี Immunoblotting และ Indirect immunofluorescence ซึ่งให้เห็นว่าเซลล์ท่อไตมีการเปลี่ยนแปลงฟีโนไทป์จาก epithelial cells ไปเป็น mesenchymal cells โดยมีการแสดงออกของโปรตีนที่บ่งชี้ฟีโนไทป์ของ mesenchymal cell เพิ่มขึ้น ได้แก่โปรตีน vimentin และ fibronectin ในขณะที่โปรตีนที่บ่งชี้ฟีโนไทป์ของ epithelial cell ลดลง ได้แก่โปรตีน E-cadherin, cytokeratin, occludin และ ZO-1 การทดสอบฤทธิ์ของสาร EGCG โดยนำมาเลี้ยงร่วมกับเซลล์ก่อนการเหนี่ยวนำด้วยโซเดียมอ็อกซาลเอทพบว่า สาร EGCG ที่ความเข้มข้น 25  $\mu$ M สามารถต้านการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ท่อไตจากการเหนี่ยวนำของอ็อกซาลเอทได้ โดยเซลล์สามารถคงสัญญาณและระดับการแสดงออกของโปรตีนที่บ่งชี้ฟีโนไทป์ของ epithelial cell ได้ กลไกระดับโมเลกุลที่ทำให้ EGCG สามารถต้านการเกิด EMT ได้น่าจะเป็นเพราะความสามารถในการลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ จากผลการทดลองทั้งหมดนี้ชี้ให้เห็นว่าสารสกัด EGCG จากชาเขียวมีฤทธิ์ในการต้านการเกิด EMT ที่เหนี่ยวนำโดยอ็อกซาลเอทได้ ซึ่งความรู้จากการศึกษาค้นคว้านี้จะนำไปสู่หนทางในการพัฒนาแนวทางการรักษาใหม่สำหรับการเกิดพังผืดในไตในอนาคต

คำหลัก : การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ท่อไต, อ็อกซาลเอท, สารสกัดชาเขียว, การเกิดพังผืดในไต