

บทคัดย่อ

ภาวะซีดถือเป็นภาวะที่สำคัญที่พบในผู้ป่วยไตวายเรื้อรัง ซึ่งส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย ลดลงเป็นอย่างมากและเป็นสาเหตุของการเกิดอาการข้างเคียงอื่นตามมาเพิ่มขึ้น เช่น โรคหัวใจ เป็นต้น การรักษาภาวะโลหิตจางในผู้ป่วยไตวายจึงนับเป็นส่วนสำคัญในการดูแลผู้ป่วย ให้มีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น และลดอัตราการตายลง อย่างไรก็ตามการรักษาโดยการฉีดอีริโทรพอยอิติน พบว่ามีข้อด้อยบางประการ ได้แก่ ราคาที่สูง ระดับที่ไม่สม่ำเสมอในเลือด และการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อโปรตีนดังกล่าวทำให้ผลการรักษาไม่ดีพอ การวิจัยนี้จึงได้มุ่งพัฒนาการรักษาโดยวิธียีนบำบัดในการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้าง โปรตีน erythropoietin ในเซลล์ผู้ป่วยเอง โดยการใช้ adeno-associated viral vector ในการนำพาส่วนของยีน *Erythropoietin* สู่เซลล์ไฟโบรบลาสต์ของมนุษย์ (human fibroblasts) ผลการทดลองพบว่าสามารถสร้าง adeno-associated viral vector ที่สามารถกระตุ้นการแสดงออกของ ยีน *Erythropoietin* ได้สำเร็จ และได้ทดสอบประสิทธิภาพในการนำเข้าสู่เซลล์ พบว่า adeno-associated viral vector ที่สร้างขึ้นสามารถเข้าสู่เซลล์เป้าหมายได้ดี การศึกษาให้เห็นประสิทธิภาพการกระตุ้นการสร้าง Erythropoietin จากเซลล์ดังกล่าว พบว่าเซลล์ดังกล่าวมีการแสดงออกของยีน *Erythropoietin* ซึ่งยืนยัน โดยการที่สามารถตรวจระดับ mRNA ของยีน *Erythropoietin* ในเซลล์เป้าหมาย นอกจากนี้พบว่าเซลล์ดังกล่าวสามารถสร้างและหลั่ง โปรตีนออกนอกเซลล์ได้ในระดับที่สูง ซึ่งยืนยัน โดยการตรวจระดับโปรตีน Erythropoietin ในสารน้ำที่เลี้ยงเซลล์ได้ โดยสรุปการวิจัยนี้ประสบความสำเร็จในการสร้างเซลล์มนุษย์ที่สามารถสร้าง โปรตีน Erythropoietin ได้ระดับสูงและสามารถหลั่ง โปรตีนดังกล่าวออกนอกเซลล์ โดยใช้ Adeno-associated viral vector ในการนำพาส่วนของยีน *Erythropoietin* เข้าสู่เซลล์ ผลงานที่ได้เป็นขั้นตอนสำคัญในการนำไปพัฒนาต่อยอดเพื่อนำไปสู่การวิจัยในสัตว์ทดลอง และในมนุษย์ในระยะต่อไปเพื่อช่วยรักษาภาวะโลหิตจางจากโรคไตวายเรื้อรัง นอกจากนี้เทคนิคดังกล่าวยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาโรคทางพันธุกรรมอื่นๆ ได้อีกในอนาคต

Abstract

Anemia in chronic renal failure has a great impact on the quality of life of patients and is the major factor in determining the other complications including heart disease. The prevention of anemia becomes the crucial part of the management of these patients. The standard treatment is erythropoietin injection which has some drawbacks including high cost, fluctuated blood level and development of autoantibody. This study aims to develop the gene therapy method to induce erythropoietin gene expression in the human cells which can be used for cell therapy for the chronic renal failure patients. In this study, the adeno-associated viral vector expressing human erythropoietin gene can be successfully produced. Furthermore, this vector can be transduced into the target cells with about 30% efficiency. These viral-infected cells can produce *Erythropoietin* mRNA. Moreover, these cells can secrete erythropoietin as shown by the high level of protein detected by ELISA method in culture media. In conclusion, we successfully produce the human cells which can produce and secrete erythropoietin by using adeno-associated viral vector as a gene-transfer method. This work will be the key step in development of gene therapy for the treatment of anemia in chronic renal failure patients. Moreover, this technique can also be applied for treatment of other genetic diseases in the future.