นิพนธ์ต้นฉบับ

การย้อม Periostin เป็นดัชนีชี้การเกิดพยาธิสภาพไตในโรคไตอักเสบเรื้อรัง

วิวัฒน์ จรุงเกียรติกุล มงคล เจริญพิทักษ์ชัย รัตนาวรรณ ดิษฐป้าน อุปถัมภ์ ศุภสินธุ์ และ บัญชา สถิระพจน์
แผนกโรคไต กองอายุรกรรม กองพยาธิวิทยา โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า และวิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

บทนำ *โรคไตอักเสบ glomerulonephritis เป็นการบาดเจ็บของไตแบบรุนแรง และพบได้บ่อย peirostin เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีบทบาทในขบวนการซ่อมแซมของเนื้อเยื่อต่างๆ และ peirostin มีระดับเพิ่มขึ้นในภาวะไตวาย แต่ข้อมูลของการแสดงออกของ periostin ในโรคไตอักเสบมีจำนวนจำกัด* ***วิธีการวิจัย*** *เป็นการศึกษาย้อมชิ้นเนื้อไตด้วย periostin ด้วยวิธี immunohistochemis tryในผู้ป่วยโรคไตอักเสบเรื้อรัง 49 ราย แบ่งเป็นโรค lupus nephritis 33 ราย IgA nephropathy 12 ราย และ minimal change disease 4 ราย จำนวนการย้อมติด และความเข้มของ periostin ในเนื้อไตถูกประเมินร่วมกับดัชนีการเกิดโรคไต และมีการติดตามการเสื่อมของไตจากการลดลงของอัตรากรองของไต* ***ผลการวิจัย*** *Periostin ย้อมติดพยาธิสภาพไตเด่นบริเวณ periglomerular และ tubulointerstitial fibrosis โดยการย้อมติดของ periostin เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในผู้ป่วย lupus nephritis (14.97 ± 8.41, p = 0.02) และ IgA nephropathy (18.50 ± 9.69, p = 0.01) เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วย minimal change disease (5.80 ± 4.76) ปริมาณการย้อมติด periostin สัมพันธ์กับคะแนนความรุนแรงโรคในผู้ป่วย IgA nephropathy และสัมพันธ์กับคะแนนความเรื้อรังของโรคในผู้ป่วย lupus nephritis และ IgA nephropathy นอกจากนี้การย้อมติด periostin ในพยาธิสภาพไตสัมพันธ์กับการลดลงของการทำงานของไต เมื่อการติดตามการทำงานของไตระยะเวลาเฉลี่ยเท่ากับ 34 สัปดาห์ โดยพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีค่า total periostin score มากกว่าค่าเฉลี่ย มีการลดลงของการทำงานไตเฉลี่ย -0.19 (-1.21 ถึง 0.46) มล./นาที/1.73 ตารางเมตร สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีค่า total periostin score น้อยกว่าค่าเฉลี่ย ที่มีการลดลงของการทำงานไตเฉลี่ย -0.05 (-0.54 ถึง 4.36) มล./นาที/1.73 ตารางเมตร แต่ผลดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.239)* ***สรุป*** *Periostin เพิ่มมากขึ้นอย่างชัดเจนในพยาธิสภาพไตจากโรคไตอักเสบ และระดับการเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับความรุนแรงของรอยโรคไต การย้อม periostin ในพยาธิสภาพไตอาจเป็นดัชนีชี้วัดความรุนแรงของโรคไตอักเสบ*

Keywords: ● *Periostin* ● *Glomerulonephritis* ● *IgA nephropathy* ● *Lupus nephritis*
เวชสารแพทย์ทหารบก 2557;67:139-48.

บทนำ

โรคไตเรื้อรังเป็นปัญหาทางสุขภาพที่สำคัญของทั่วโลกรวมทั้งในประเทศไทย จากข้อมูลการศึกษาของสมาคมโรคไตแห่งประเทศไทยในประชากรจำนวน 3,459 ราย มีโรคไตเรื้อรัง 626 ราย หรือมีความชุกของโรคไตเรื้อรังร้อยละ 17.5[1] คาดว่าจำนวนผู้ป่วยโรคไตเรื้อรังจะเพิ่มมากขึ้นในอนาคต และจากการศึกษาในประชากรทหาร และครอบครัวในประเทศไทยในประชากรจำนวน 15,357 ราย มีโรคไตเรื้อรัง 1,127 ราย หรือมีความชุกของโรคไตเรื้อรังร้อยละ 7.5[2] โดยสาเหตุส่วนใหญ่ของโรคไตเรื้อรังของประชากรไทยเกิดจากโรคไตจากเบาหวาน ความดันโลหิตสูง ภาวะทางเดินปัสสาวะอุดตัน และโรคไตอักเสบเรื้อรัง (chronic glomerulonephritis) และกลุ่มโรค chronic glomerulonephritis ที่ได้รับการตรวจชิ้นเนื้อไตในประเทศไทย ส่วนใหญ่เกิดจากโรคไตอักเสบลูปัส (lupus nephritis) ร้อยละ 36.6 และ IgA nephropathy พบร้อยละ 14.8 โดยโรค glomerulonephritis เป็นหนึ่งในกลุ่มของโรคไตที่สามารถรักษา และชะลอการเสื่อมของโรคไตด้วยยาควบคุมภูมิคุ้มกันได้ เมื่อได้รับการวินิจฉัยระยะแรกของโรค

การวินิจฉัยและรักษาโรคไตอักเสบเรื้อรัง ตั้งแต่ระยะแรกจึงมีความสำคัญ ปัจจุบันทางคลินิกการวินิจฉัยและการติดตามการ

ได้รับต้นฉบับเมื่อ 18 พฤศจิกายน 2557 ได้ตีพิมพ์เมื่อ 3 ธันวาคม 2557
ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ พ.ต.บัญชา สถิระพจน์ แผนกโรคไต กองอายุรกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า ถนนราชวิถี เขตราชเทวี กทม. 10400

ดำเนินโรคอาศัยการตรวจครีแอทินินในเลือด ร่วมกับการคำนวณอัตราการกรองของไต แต่การตรวจระดับครีแอทินินในเลือดจะเพิ่มขึ้นเมื่อการทำงานของไตลดลงร้อยละ 50 จึงมีความไวต่ำในการวินิจฉัยโรคระยะแรก[3] การตรวจระดับโปรตีนในปัสสาวะช่วยบ่งบอกถึงความรุนแรงของภาวะไตอักเสบ และการตอบสนองต่อการรักษา[4] แต่สามารถตรวจพบโปรตีนในปัสสาวะสูงได้หลังจากพยาธิสภาพไตอักเสบสงบแล้ว และผู้ป่วยบางกลุ่มของโรคไตอักเสบเรื้อรัง โดยเฉพาะมีพยาธิสภาพเด่นที่ tubulointerstitium อาจตรวจไม่พบโปรตีนในปัสสาวะได้ ดังนั้นวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อวินิจฉัย และติดตามการดำเนินโรคไตในปัจจุบันยังมีข้อจำกัด

ปัจจุบันอาศัยเทคโนโลยีการตรวจ genomic analysis (DNA microarrays) และ proteomic analysis เพื่อค้นหาดัชนีชี้วัดใหม่ๆ (novel biomarkers) ในการวินิจฉัย และติดตามการดำเนินโรคไต เพื่อวางแนวทางการรักษาโรคตั้งแต่ระยะแรก ตามกลไกการเกิดโรคไตเรื้อรัง[5] โดยพบว่า การเกิดภาวะขาดเลือดที่ไปเลี้ยงไตส่งผลให้เกิด post-glomerular peritubular microvascular insufficiency นำไปสู่การเกิดการบาดเจ็บของไต และสัมพันธ์กับกระบวนการเกิด epithelial mesenchymal transition (EMT) และพังผืดที่ไตตามมา[6] ดังนั้นการตรวจหา novel biomarkers ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเกิดการบาดเจ็บของไตตามกลไกดังกล่าว อาจช่วยในการวินิจฉัย พยากรณ์โรค และวางแผนแนวทางการรักษาโรคตั้งแต่ระยะแรก

Periostin เป็นโปรตีนในกลุ่ม matricellular protein มีโครงสร้าง disulfide linked heparin-binding N terminus-glycosylated protein มีขนาด 90 กิโลดาลตัน ตรวจพบครั้งแรกในกระดูก[7-9] ซึ่งสาร periostin เป็น adhesion molecule ไม่สามารถตรวจพบในไตที่ทำงานปกติ[10] แต่เมื่อเกิดพยาธิสภาพไตสามารถตรวจพบ periostin บริเวณท่อไตส่วน distal tubule ในช่วง 2 ปีที่ผ่านมีงานวิจัยที่ตรวจพบ periostin จากเนื้อเยื่อต่างๆ ได้แก่ กระดูก ผิวหนัง กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด และมีการตรวจพบ periostin อย่างเด่นชัดในภาวะที่มีพังผืด ในอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย โดยเชื่อว่า periostin กระตุ้นขบวนการ EMT[11] ซึ่งเป็นขบวนการสำคัญของการเกิดพังผืดของไต หรือเรียกว่า tubulointerstitial fibrosis และการเสื่อมของหน้าที่ไตในผู้ป่วยไตเรื้อรัง ดังนั้นเห็นได้ว่า periostin น่าจะเป็นดัชนีชี้วัดของการเกิดโรคไต โดยเฉพาะโรคไตอักเสบเรื้อรัง ซึ่งส่วนใหญ่มีพยาธิสภาพเด่นบริเวณ tubulointerstitium ร่วมด้วยเสมอ และคาดว่าสามารถใช้ในการวินิจฉัยโรค ประเมินการทำงานของไต และติดตามการรักษาในผู้ป่วยไตเรื้อรัง

จากข้อมูลข้างต้น จึงเป็นที่มาของสมมุติฐานที่ใช้ระดับการย้อมติดสาร periostin จากชิ้นเนื้อไตในการประเมินการเกิดพังผืด และการทำงานของไต ซึ่งอาจเป็นตัวบ่งชี้การอยู่รอดของไตของผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง โดยทำการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยโรคไตอักเสบเรื้อรังจาก lupus nephritis และ IgA nephropathy เทียบกับกลุ่มควบคุม คือ minimal change disease แล้วติดตามการดำเนินโรคไตของผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าว

วิธีการ

เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง โดยเก็บข้อมูลพื้นฐานตั้งแต่ มกราคม พ.ศ. 2553 ถึง มกราคม พ.ศ. 2555 และทำการย้อมชิ้นเนื้อไตด้วย periostin ตั้งแต่แรกวินิจฉัยโรคไตอักเสบเรื้อรัง แล้วติดตามอาการไปข้างหน้าในระยะเวลา 2 ปี ตั้งแต่ให้การวินิจฉัยโรค โดยมีประชากรกลุ่มเป้าหมาย เป็นผู้ป่วยโรคไตอักเสบเรื้อรังที่ได้รับการยืนยันทางชิ้นเนื้อไตจากผลพยาธิวิทยาในช่วงระยะเวลาตั้งแต่มกราคม พ.ศ. 2553 จนถึง มกราคม พ.ศ. 2555 โดยวินิจฉัยโรค lupus nephritis และ IgA nephropathy มีอายุตั้งแต่ 18 ปีขึ้นไป และรับการตรวจรักษาแผนกอายุรกรรม โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า และกลุ่มควบคุมคือผู้ป่วยโรค minimal change disease ซึ่งเป็นกลุ่มโรคไตที่ไม่มีพยาธิสภาพทางไตจากการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ และมีโอกาสน้อยมากในการดำเนินโรคไตไปสู่โรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย และเกณฑ์การคัดออกจากการวิจัย คือ ผลการตรวจชิ้นเนื้อไต พบมีจำนวนโกลเมอรูลัสน้อยกว่า 3 หน่วยต่อชิ้นเนื้อไต และผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัย พบมีภาวะอุดตันทางเดินปัสสาวะ ภาวะติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ ภาวะถุงน้ำที่ไต และเนื้องอกที่ไตร่วมด้วย

เริ่มจากการทบทวนเวชระเบียนผู้ป่วยที่ได้รับการเจาะตรวจชิ้นเนื้อไต เพื่อค้นหาผู้ป่วยที่ผ่านเกณฑ์คัดเลือก โดยเก็บข้อมูลทั่วไปได้แก่ เพศ อายุ โรคประจำตัว ระดับความดันโลหิต ชีพจร น้ำหนัก ส่วนสูง ดัชนีมวลกาย การรักษาบำบัดทดแทนไต และการเสียชีวิต และข้อมูลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ระดับฮีโมโกลบิน จำนวนเม็ดเลือดขาว และเกร็ดเลือด ค่าการทำงานของไต ระดับไขมันในเลือด ระดับแอลบูมินในเลือด ระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหารอย่างน้อย 8 ชั่วโมง ผลตรวจปัสสาวะ ตรวจระดับโปรตีนในปัสสาวะจากการตรวจ urine protein and creatinine

ratio (UPCR) และประเมินอัตราการกรองของไตจากสูตรคำนวณ CKD-EPI[12]

การตรวจพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อไต โดยนำชิ้นเนื้อไตเดิมมาย้อม hematoxylin and eosin (H&E), periodic acid–Schiff (PAS), Masson's trichrome, Jones methenamine silver (JMS) รวมทั้งการย้อมพิเศษตรวจสาร periostin ซึ่งกรรมวิธีการย้อมที่เป็นมาตรฐานคือการย้อม immunohistochemistry วิธีการย้อมใช้แอนติเจนทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่มีต่อสาร periostin (anti-periostin antibody) การย้อมอาศัยอุปกรณ์คือ เครื่องย้อมสไลด์ VENTANA รุ่น Benchmark XT (Roche; USA) ชิ้นเนื้อไตที่ผ่านการย้อมจะได้รับการประเมินคะแนนเป็นความรุนแรงของพยาธิสภาพไตจากค่า activity score ความเรื้อรังของพยาธิสภาพไตจากค่า chronicity score และการย้อมติดสาร periostin ของพยาธิสภาพไตจากค่า total periostin score โดยแสดงการประเมินดังตารางที่ 1 การคำนวณการย้อมติดสาร periostin แสดงเป็น total periostin score[13] เป็นผลลัพธ์ของการรวมร้อยละของพยาธิสภาพไตที่มีพื้นที่ติด periostin (percentage of positive periostin) กับความเข้มของการติด periostin (intensity score) ในพยาธิสภาพไตแสดงในตารางที่ 2 และสามารถแยก total periostin score ตามตำแหน่งการติดเป็นโกลเมอรูลัส และ tubulointerstitium

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลทั้งหมดนำมาวิเคราะห์ โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติสำเร็จรูปทางคอมพิวเตอร์ โดยข้อมูลทั่วไปในการศึกษาถูกวิเคราะห์ด้วยสถิติเชิงพรรณนาเป็นการแจกแจงความถี่ ค่ามัธยฐาน ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน การเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการย้อมติดสาร periostin จากชิ้นเนื้อไตกับระดับการทำงานของไต ระดับโปรตีนในปัสสาวะ และความรุนแรงของพยาธิสภาพไตจากการประเมิน activity score และ chronicity score ใช้สถิติ Spearman's rank correlation coefficient และ ANOVA test การดูความสัมพันธ์ระหว่างค่าการย้อมติดสาร periostin จากชิ้นเนื้อไตกับอัตราการเกิดอัตราการกรองของไตลดลงอย่างรวดเร็ว โดยมีนิยามคือ การลดลงของ

ตารางที่ 1 การประเมินความรุนแรงของพยาธิสภาพไตจากค่า activity score ความเรื้อรังของพยาธิสภาพไตจากค่า chronicity score และการย้อมติดสาร periostin ของพยาธิสภาพไตจากค่า total periostin score

Activity score	Chronicity score	Total periostin score
Cellular proliferation (0-3)	Glomerular sclerosis (0-3)	Percentage of periostin staining
Fibrinoid necrosis (0-6)	Fibrous crescent (0-3)	Intensity of periostin staining
Cellular crescent (0-6)	Interstitial fibrosis (0-3)	
Hyaline thrombi (0-3)	Tubular atrophy (0-3)	
Leukocyte infiltration in glomeruli (0-3)		
Mononuclear cell infiltrate in interstitium (0-3)		

ตารางที่ 2 การประเมิน Total periostin score โดยอาศัยการรวมของ Percentage score และ Intensity score ซึ่งมีคะแนนสูงสุดเท่ากับ 8 และต่ำสุดเท่ากับ 0

Percentage score		Intensity score	
Percentage of positive periostin	**Score**	**Intensity of periostin**	**Score**
None	0	0	0
1	1	< 25%	1
2-10	2	25-50%	2
11-33	3	> 50%	3
34-66	4		
67-100	5		

Total periostin score = Percentage score + Intensity score

อัตราการกรองของไตมากกว่า 5 มิลลิลิตรต่อนาทีต่อ 1.73 ตารางเมตรต่อปี โดยใช้สถิติ Kaplan-Meier survival curve กำหนดค่าการมีนัยสำคัญทางสถิติคือ p น้อยกว่า 0.05

ผลการศึกษา

จากการศึกษาโดยรวบรวมข้อมูลตั้งแต่ มกราคม พ.ศ. 2553 จนถึง มกราคม พ.ศ. 2555 มีจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด 49 ราย เข้าเกณฑ์การศึกษา โดยแบ่งเป็น minimal change disease 4 ราย lupus nephritis 33 ราย และ IgA nephropathy 12 ราย แบ่งเป็นเพศชาย 17 รายและเพศหญิง 32 ราย อายุเฉลี่ย 35 ± 11 ปี ผู้ป่วยมีโรคร่วมได้แก่ เบาหวานร้อยละ 6.1 ความดันโลหิตสูงร้อยละ 34.7 และไขมันในเลือดสูงร้อยละ 22.4 ส่วนใหญ่มีโปรตีนรั่วในปัสสาวะร้อยละ 81.6 และมีระดับความดันโลหิตอยู่ในช่วง 134 ± 17/84 ± 13 มิลลิเมตรปรอท อัตราการกรองของไตเฉลี่ยเท่ากับ 80 ± 38 มิลลิลิตรต่อนาทีต่อ 1.73 ตารางเมตร ระดับแอลบูมินในเลือดเฉลี่ย 3.2 ± 0.7 กรัมต่อเดซิลิตร และระดับโปรตีนในปัสสาวะ (UPCR) เท่ากับ 3.9 ± 3.4 ดังแสดงในตารางที่ 3

การตรวจการย้อมติด periostin พบว่า ผู้ป่วย lupus nephritis มีค่ามัธยฐานของ total periostin score เท่ากับ 15 (11-21) โดยสาร periostin มีการย้อมติดเด่นบริเวณ periglomerular area และตำแหน่งที่เกิด interstitial fibrosis แสดงดังรูปที่ 1 สำหรับผู้ป่วย IgA nephropathy มีค่ามัธยฐานของ total periostin score เท่ากับ 18 (11-21) ซึ่งสาร periostin ย้อมติดมากในบริเวณ periglomerular area, global glomerulosclerosis และตำแหน่ง tubules และ interstitial fibrosis แสดงดังรูปที่ 1 และตารางที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบระดับ total periostin score ใน

ตารางที่ 3 ข้อมูลพื้นฐานของกลุ่มประชากรที่ศึกษา

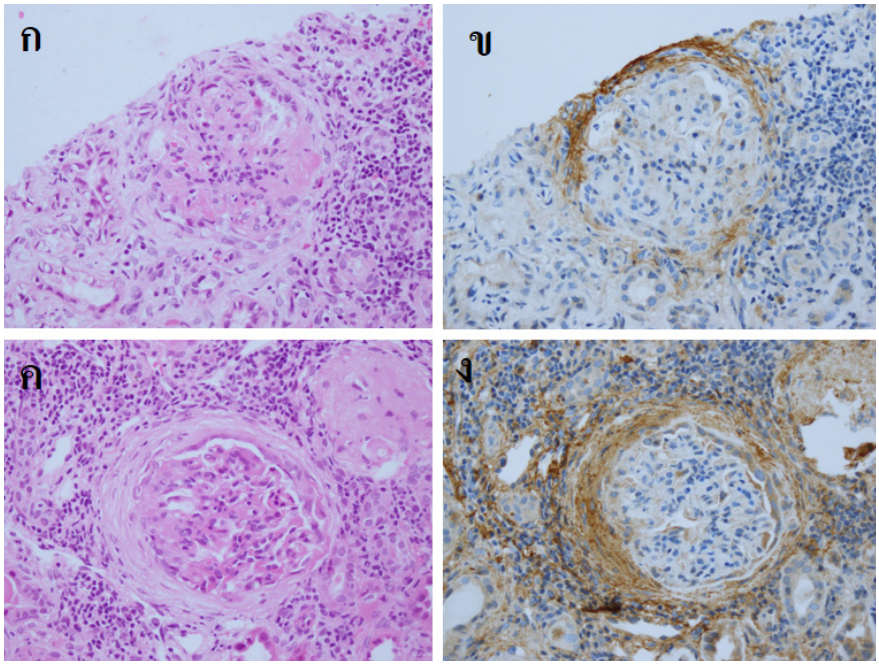
Baselines	MCD (N = 4)	LN (N = 33)	IgAN (N = 12)	Total (N = 49)
Male (N, %)	3 (75%)	7 (21.2%)	7 (58.3%)	17 (34.7%)
Age (yr)	44 ± 11	35 ± 12	33 ± 9	35 ± 11
Body weight (kg)	70 ± 5	61 ± 11	73 ± 11	64 ± 11
Hypertension (%)	50	24.2	58.3	34.7
Diabetes (%)	0	6.1	8.3	6.1
Hyperlipidemia (%)	75	18.2	16.7	22.4
Hematuria (%)	25	12.1	41.7	20.4
Proteinuria (%)	100	84.8	66.7	81.6
SBP (mmHg)	124 ± 5	136 ± 18	132 ± 17	134 ± 17
DBP (mmHg)	76 ± 6	86 ± 14	84 ± 10	84 ± 13
Hemoglobin (g/dL)	13.6 ± 1.3	10.8 ± 2.1	13.6 ± 1.3	11.7 ± 2.3
BUN (mg/dL)	12.4 ± 5.1	31 ± 22.2	22.5 ± 1.8	27.4 ± 20.9
Serum creatinine (mg/dL)	0.9 ± 0.1	1.5 ± 1.3	1.6 ± 1.4	1.4 ± 1.3
GFR (mL/min/1.73m^2)	96.3 ± 16	80 ± 41	74 ± 36	80 ± 38
FPG (mg/dL)	81 ± 11	98 ± 27	98 ± 14	96 ± 23
Albumin (g/dL)	2.7 ± 0.7	3 ± 0.7	3.7 ± 0.5	3.2 ± 0.7
Cholesterol (mg/dL)	354 ± 156	267 ± 90	232 ± 55	265 ± 92
LDL (mg/dL)	250 ± 139	170 ± 67	144 ± 34	170 ± 71
UPCR	3.9 ± 3.2	4.4 ± 3.8	2.2 ± 2.1	3.9 ± 3.4

ข้อมูลในตารางแสดงผลเป็น ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

BUN = blood urea nitrogen; DBP = diastolic blood pressure; FPG = fasting plasma glucose;

GFR = Glomerular filtration rate; IgAN = IgA nephropathy; LDL = low density lipoprotein; LN = lupus nephritis;

MCD = minimal change disease; SBP = systolic blood pressure; UPCR = urine protein creatinine ratio



รูปที่ 1 จากการย้อม hematoxylin & eosin (H&E) กับ periostin ในผู้ป่วยโรคไตอักเสบเรื้อรัง

ก จากการย้อม H&E แสดงลักษณะmesangial hypercellularity, endocapillary proliferation, cellular crescent และมี mononuclear cell infiltration in tubulointerstitium area ร่วมกับ interstitial edema ในผู้ป่วยโรคไต lupus nephritis **ข** จากการย้อม periostin พบการติดของ periostin ที่ตำแหน่ง periglomerular area และ interstitial fibrosis ในผู้ป่วยโรคไต lupus nephritis **ค** จากการย้อม H&E แสดงลักษณะ periglomerular fibrosis, global glomerulosclerosis และ mononuclear cell infiltrate ใน interstitium ในผู้ป่วยโรคไต IgA nephropathy **ง** จากการย้อม periostin พบมีการติดที่ตำแหน่ง periglomerular area และ global sclerosis area และ interstitial fibrosis

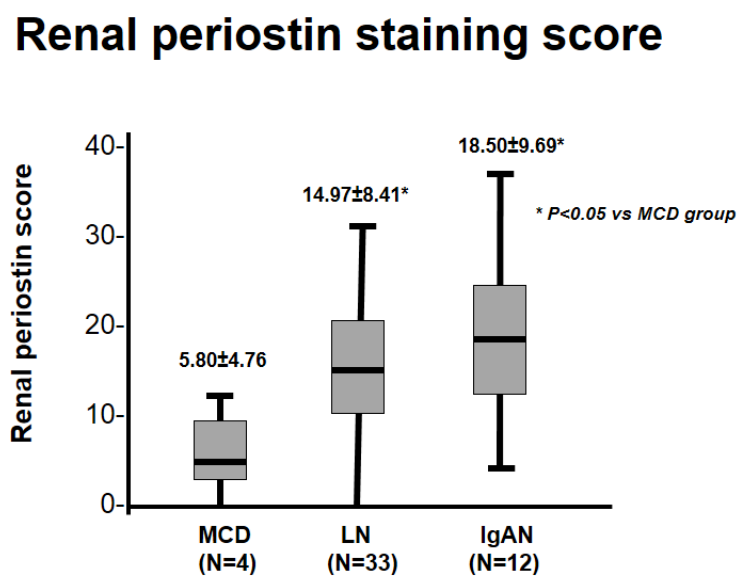
ตารางที่ 4 ระดับ Total periostin score ในผู้ป่วย lupus nephritis และ IgA nephropathy

	Median periostin staining score	**Percentage of positive staining**	**Intensity**
Lupus nephritis			
Periglomerular staining	5 (4-7)	35 (17-75)	2
Mesangial staining	0	0	0
Interstitial fibrosis	4 (3-4)	5 (2-8)	2
Tubular staining	1 (0-1)	1 (0-1)	1
Median total periostin score	**15 (11-21)**		
Mean total periostin score	**14.97 ± 8.41**		
IgA nephropathy			
Periglomerular staining	7 (2-7)	46 (14-87)	2
Mesangial staining	2 (0-5)	7 (0-39)	1
Interstitial fibrosis	4 (2-5)	13 (2-40)	1
Tubular staining	4 (3-5)	4 (2-8)	2
Median total periostin score	**18 (11-21)**		
Mean total periostin score	**18.50 ± 9.69**		

3 กลุ่มโรค พบว่าในกลุ่ม lupus nephritis และ IgA nephropathy มีค่าคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 14.97 ± 8.41 และ 18.50 ± 9.69 โดยมีค่าสูงกว่ากลุ่ม minimal change disease ที่มีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 5.80 ± 4.76 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแสดงในรูปที่ 2

ความสัมพันธ์ของระดับ total periostin score กับ activity และ chronicity score ของแต่ละโรค พบว่า ค่า total periostin score มีความสัมพันธ์กับ chronicity score ใน lupus nephritis อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีความสัมพันธ์กับ activity และ chronicity score ใน IgA nephropathy อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 5 นอกจากนี้ total periostin score มีความสัมพันธ์โดยตรงกับระดับความดันโลหิตตัวบน ความดันโลหิตตัวล่าง ค่ายูเรียในเลือด และมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับอัตราการกรองของไต แสดงในตารางที่ 6

การติดตามการทำงานของไตในผู้ป่วยทุกราย ระยะเวลาเฉลี่ยเท่ากับ 34 สัปดาห์ โดยพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีค่า total periostin score มากกว่าค่าเฉลี่ย หรือมากกว่า 14.5 มีการลดลงของการทำงานไตเฉลี่ย -0.19 (-1.21 ถึง 0.46) มล./นาที/1.73 ตารางเมตร สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีค่า total periostin score น้อยกว่า 14.5 ที่มีการลดลงของการทำงานไตเฉลี่ย -0.05 (-0.54 ถึง 4.36) มล./นาที/1.73 ตารางเมตร แต่ผลดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.239) เมื่อคำนวณอัตราการเกิดการลดลงของการทำงานไตอย่างรวดเร็ว โดยนิยามคือ การลดลงของอัตราการกรองของไตมากกว่า 1 มล./นาที/1.73 ตารางเมตร ต่อเดือน พบว่า กลุ่มผู้ป่วยที่มี total periostin score มากกว่า 14.5 มีอัตราการเกิดโรคมากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี total periostin score น้อยกว่า 14.5 แต่ผลดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 2 ระดับ renal periostin staining score ในผู้ป่วย minimal change disease, lupus nephritis และ IgA nephropathy

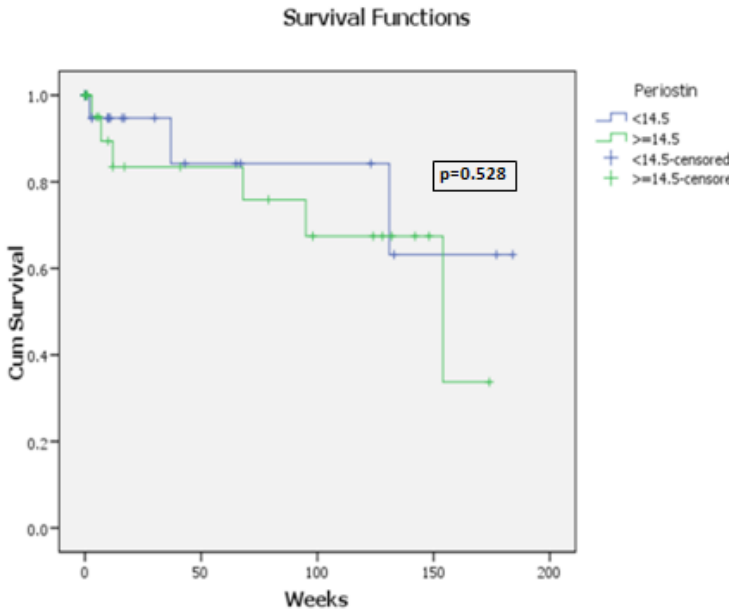
ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่าง total periostin score กับ activity/chronicity score ใน lupus nephritis และ IgA nephropathy

Disease	Correlation coefficient	p value
Lupus nephritis		
- Activity score	0.315	0.075
- Chronicity score	0.659	0.001
IgA nephropathy		
- Activity score	0.707	0.010
- Chronicity score	0.693	0.013

ตารางที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่าง total periostin score กับปัจจัยอื่น ๆ

Variable factors	Total periostin score	
	Correlation coefficient	p value
SBP (mmHg)	0.41	0.003
DBP (mmHg)	0.29	0.043
BUN (mg/dL)	0.38	0.007
GFR (mL/min/1.73m^2)	- 0.51	0.001
Serum albumin (g/dL)	0.12	0.390
UPCR	0.19	0.220

BUN = blood urea nitrogen; DBP = diastolic blood pressure; GFR = Glomerular filtration rate; SBP = systolic blood pressure; UPCR = urine protein creatinine ratio



รูปที่ 3 Kaplan-meier survival curve การติดตามการทำงานของไตในผู้ป่วย โดยพบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีค่า total periostin scoreมากกว่าค่าเฉลี่ย หรือมากกว่า 14.5 มีการเกิดการลดลงของอัตราการกรองของไตมากกว่า 1 มล./นาที/ตารางเมตร ต่อเดือน มากกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีค่า total periostin score น้อยกว่า 14.5 แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

วิจารณ์

จากผลการศึกษานี้เห็นได้ว่า กลุ่มโรค lupus nephritis และ IgA nephropathy มีระดับ total periostin score สูงกว่าใน minimal change disease อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่า สาร periostin ย้อมติดมากที่บริเวณ periglomeruli และ tubulointerstitial area นอกจากนี้ total periostin score ยังสัมพันธ์กับ activity/chronicity index และการลดลงของอัตราการกรองของไตในโรค lupus nephritis และ IgA nephropathy รวมทั้งพบมีความสัมพันธ์กับปัจจัยอื่นๆ ได้แก่ ระดับความดันโลหิตตัวบนและตัวล่าง อย่างไรก็ตามผลเบื้องต้นในระยะเวลาจำกัดจากการศึกษานี้ คะแนน total periostin score ไม่สามารถเป็นตัวบอกพยากรณ์โรคของอัตราการกรองของไตที่ลดลงอย่างรวดเร็วในโรค lupus nephritis และ IgA nephropathy

กลไกสำคัญของการเกิดโรคไตเรื้อรังผ่านกระบวนการเกิดขาดเลือดมาเลี้ยงเนื้อไต (microvascular insufficiency) ทำให้เกิด tubulointerstitial hypoxia ทำให้เกิดการบาดเจ็บของท่อไต แล้วเกิดขบวนการ EMT จนนำไปสู่การเกิดพยาธิสภาพของไตแบบรุนแรงเกิดพังผืดที่ไต จนนำไปสู่ไตวายเรื้อรัง[5] โดยจากหลาย

การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า periostin จากเนื้อเยื่อต่างๆ[14-16] ได้แก่ ผิวหนัง ลำไส้ใหญ่ กระเพาะอาหาร ต่อมไทรอยด์ ต่อมลูกหมาก เต้านม และกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด สัมพันธ์กับกระบวนการเกิด EMT และการเกิดพังผืดของเนื้อเยื่อ[17] ดังนั้น periostin เป็นปัจจัยหนึ่งในการกระตุ้นการเกิด EMT ในอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย รวมทั้งเชื่อว่าทำให้เกิดพยาธิสภาพในไต โดยมีการศึกษาของ Braun N. และคณะ[18] ตรวจพบ การแสดงออกของ periostin เพิ่มขึ้นอย่างมากในเยื่อบุผิวช่องท้องของผู้ป่วยที่บำบัดรักษาทดแทนไตด้วยการล้างไตทางช่องท้อง และเกิดมากขึ้นอย่างชัดเจนในภาวะ encapsulating peritoneal sclerosis (EPS) ซึ่งพบมากที่เซลล์ peritoneal fibroblast ที่มีบทบาทสำคัญของการเกิด EMT ตามมา และจากการศึกษาของ Satirapoj B. และคณะ[19] สามารถตรวจพบ periostin ในผู้ป่วยหลังปลูกถ่ายไตที่มีพยาธิสภาพไตแบบ chronic allograft nephropathy ซึ่งผ่านขบวนการเกิด EMT เห็นได้ว่าการตรวจพบระดับ periostin ในพยาธิสภาพของโรคต่างๆ ที่มีการเกิดภาวะ EMT ขึ้น ซึ่งเป็นที่มาของการตรวจ periostin เพิ่มเติมในผู้ป่วยโรคไตเรื้อรัง

พยาธิสภาพทางไตบริเวณ tubulointerstitial area เป็นปัจจัยสำคัญของการเกิดโรค และการดำเนินโรคไตในผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง[20] โดยจากการศึกษาเบื้องต้นในสัตว์ทดลองที่เกิดไตเรื้อรังจากการผ่าตัดไต (5/6 nephrectomy) แล้วทำการตรวจ microarray analysis พบยีน periostin เพิ่มขึ้นตั้งแต่ระยะแรกของโรค และเพิ่มมากขึ้นตามความรุนแรงของพยาธิสภาพไต รวมทั้งระดับ periostin สัมพันธ์กับความพยาธิสภาพไตจาก tubulo-interstitial injury และการลดลงของการทำงานของไต[21] ต่อมามีการศึกษาของ Sen K. และคณะ[22] ในผู้ป่วยโรคไตอักเสบเรื้อรังจาก focal segmental glomerulosclerosis, membranous nephropathy, lupus nephritis และ IgA nephropathy ซึ่งมีโปรตีนรั่วในปัสสาวะปริมาณมาก เมื่อนำมาตรวจ mRNA analysis, microarray analysis และ quantitative real-time RT-PCR พบว่า ยีน periostin เพิ่มสูงอย่างเด่นชัด และมีการย้อมติด periostin เพิ่มขึ้นที่ตำแหน่งโกลเมอรูลัส และ tubulointerstitium นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ของการย้อมติด periostin ในไตกับการลดลงของอัตราการกรองของไต ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของเราคือ สาร periostin ย้อมติดมากที่บริเวณ periglomeruli และ tubulointerstitial area และสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของความรุนแรงของพยาธิสภาพไต และการลดลงของอัตราการกรองของไตในโรคไตอักเสบ lupus nephritis และ IgA nephropathy จากการศึกษานี้จะเห็นได้ว่า periostin เป็นดัชนีการเกิดพยาธิสภาพไตอักเสบ ซึ่งการนำผลการศึกษานี้ไปพัฒนางานเพิ่มเติมในการตรวจสอบ periostin ทางคลินิกจากการตรวจในเลือด หรือปัสสาวะเพื่อการวินิจฉัย และทำนายการเกิดโรคไตอักเสบเรื้อรัง โดยเฉพาะผู้ป่วย lupus nephritis และ IgA nephropathy ต่อไป

ข้อจำกัดของการศึกษานี้คือ รูปแบบการศึกษาเป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง เพื่อทำนายการเกิดโรคไตเรื้อรัง ทำให้ไม่สามารถเก็บข้อมูลการดำเนินโรคไตได้ครบทุกปัจจัย และเป็นการศึกษาในระยะสั้น และจำนวนผู้ป่วยในการศึกษามีจำนวนจำกัดจึงไม่สามารถแสดงผลหลักของการศึกษาได้ คือ การเกิดโรคไตเรื้อรังระยะสุดท้ายหรือการบำบัดทนแทนทางไตของผู้ป่วยไตอักเสบดังกล่าว อย่างไรก็ตามจากการศึกษานี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นว่า การย้อมติด periostin สัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคไตอักเสบเรื้อรัง

สรุป periostin เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดพยาธิสภาพของไตที่รุนแรงนำไปสู่การเกิด EMT จนเข้าสู่ภาวะไตเรื้อรัง การศึกษานี้พบ periostin มีระดับเพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจนในบริเวณ periglomeruli กับ tubulointerstitial area และ periostin มีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของพยาธิสภาพของไต และอัตราการลดลงของอัตราการกรองของไตในผู้ป่วยไตอักเสบเรื้อรัง lupus nephritis และ IgA nephropathy โดยยังต้องการการศึกษาต่อไปของบทบาทของ periostin เพื่อมาประยุกต์ใช้ในทางคลินิกต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ทีมผู้วิจัยขอขอบพระคุณวิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า และสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ประเทศไทย (National Science and Technology Development Agency, NSTDA, P-13-00505,Thailand) ที่ได้ให้การสนับสนุนโครงการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. *Ingsathit A, Thakkinstian A, Chaiprasert A, Sangthawan P, Gojaseni P, Kiattisunthorn K, et al. Prevalence and risk factors of chronic kidney disease in the Thai adult population: Thai SEEK study. Nephrol Dial Transplant 2010;25:1567-75.*
2. *Satirapoj B, Supasyndh O, Mayteedol N, Punpanich D, Chaiprasert A, Nata N, et al. Obesity and its relation to chronic kidney*

disease: a population-based, cross-sectional study of a Thai army population and relatives. Nephrology (Carlton) 2013;18:229-34.

3. *Herrera J, Rodriguez-Iturbe B. Stimulation of tubular secretion of creatinine in health and in conditions associated with reduced nephron mass. Evidence for a tubular functional reserve. Nephrol Dial Transplant 1998;13:623-9.*
4. *Zandi-Nejad K, Eddy AA, Glassock RJ, Brenner BM. Why is proteinuria an ominous biomarker of progressive kidney disease? Kidney Int Suppl 2004:S76-89.*
5. *Fine LG, Norman JT. Chronic hypoxia as a mechanism of progression of chronic kidney diseases: from hypothesis to novel therapeutics. Kidney Int 2008;74:867-72.*
6. *Galichon P, Hertig A. Epithelial to mesenchymal transition as a biomarker in renal fibrosis: are we ready for the bedside? Fibrogenesis Tissue Repair 2011;4:11.*
7. *Lindenmeyer MT, Eichinger F, Sen K, Anders HJ, Edenhofer I, Mattinzoli D, et al. Systematic analysis of a novel human renal glomerulus-enriched gene expression dataset. PLoS One 2010;5:e11545.*
8. *Shimazaki M, Nakamura K, Kii I, Kashima T, Amizuka N, Li M, et al. Periostin is essential for cardiac healing after acute myocardial infarction. J Exp Med 2008;205:295-303.*
9. *Maruhashi T, Kii I, Saito M, Kudo A. Interaction between periostin and BMP-1 promotes proteolytic activation of lysyl oxidase. J Biol Chem 2010;285:13294-303.*
10. *Hamilton DW. Functional role of periostin in development and wound repair: implications for connective tissue disease. J Cell Commun Signal 2008;2:9-17.*
11. *Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention. J Am Soc Nephrol 2004;15:1-12.*
12. *Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. Ann Intern Med 2009;150:604-12.*
13. *Qureshi A, Pervez S. Allred scoring for ER reporting and it's impact in clearly distinguishing ER negative from ER positive breast cancers. J Pak Med Assoc 2010;60:350-3.*
14. *Takeshita S, Kikuno R, Tezuka K, Amann E. Osteoblast-specific factor 2: cloning of a putative bone adhesion protein with homology with the insect protein fasciclin I. Biochem J 1993;294 (Pt 1):271-8.*
15. *Tai IT, Dai M, Chen LB. Periostin induction in tumor cell line explants and inhibition of in vitro cell growth by anti-periostin antibodies. Carcinogenesis 2005;26:908-15.*
16. *Conway SJ, Molkentin JD. Periostin as a heterofunctional regulator of cardiac development and disease. Curr Genomics 2008;9:548-55.*
17. *Soltermann A, Tischler V, Arbogast S, Braun J, Probst-Hensch N, Weder W, et al. Prognostic significance of epithelial-mesenchymal and mesenchymal-epithelial transition protein expression in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 2008;14:7430-7.*
18. *Braun N, Sen K, Alscher MD, Fritz P, Kimmel M, Morelle J, et al. Periostin: A Matricellular Protein Involved in Peritoneal Injury during Peritoneal Dialysis. Perit Dial Int 2013.*
19. *Satirapoj B, Witoon R, Ruangkanchanasetr P, Wantanasiri P, Charoenpitakchai M, Choovichian P. Urine periostin as a biomarker of renal injury in chronic allograft nephropathy. Transplant Proc 2014;46:135-40.*
20. *Satirapoj B, Nast CC, Adler SG. Novel insights into the relationship between glomerular pathology and progressive kidney disease. Adv Chronic Kidney Dis 2012;19:93-100.*
21. *Satirapoj B, Wang Y, Chamberlin MP, Dai T, LaPage J, Phillips L, et al. Periostin: novel tissue and urinary biomarker of progressive renal injury induces a coordinated mesenchymal phenotype in tubular cells. Nephrol Dial Transplant 2012;27:2702-11.*
22. *Sen K, Lindenmeyer MT, Gaspert A, Eichinger F, Neusser MA, Kretzler M, et al. Periostin is induced in glomerular injury and expressed de novo in interstitial renal fibrosis. Am J Pathol 2011;179:1756-67.*

Periostin Staining as Novel Tissue Biomarker in Progressive Glomerular Injury

Wiwat Charungkiattikul[1], Mongkon Charoenpitakchai[2] Rattanawan Dispan[1], Ouppatham Supasyndh[1] and Bancha Satirapoj[1]

[1]Division of Nephrology, Department of Medicine; [2]Department of Pathology Phramongkutklao Hospital and College of Medicine, Bangkok, Thailand

Background: *Glomerulonephritis (GN) is a progressive kidney injury and is a common form of kidney disease. Periostin, a recently characterized matricellular protein participating in the tissue remodeling, is markedly induced in renal injury. There is limited information about periostin expression in GN.* ***Methods:*** *In this study involving 49 patients with lupus nephritis (LN) (n = 33), IgA nephropathy (IgAN) (n = 12) and minimal change disease (MCD) (n = 4), periostin was stained by immunohistochemistry in renal biopsies. Perisotin expression and intensity was studied with other kidney injury markers. Progression kidney injury, assessed as declining of glomerular filtration rate (GFR), was evaluated during follow-up.* ***Results:*** *Periostin expression was predominantly located in the injured regions and the sites of fibrosis including periglomerular and tubulointerstitial areas. Periostin staining had significantly increased patients with LN (14.97 ± 8.41, p = 0.02) and IgAN (18.50 ± 9.69, p = 0.01) when compared to MCD patients (5.80 ± 4.76). Periostin staining correlated positively with renal activity index in IgAN patients. It also correlated positively with renal chronicity index in LN and IgAN patients. Renal periostin were inversely related to GFR. After a median follow-up of 34 weeks, a trend for higher declining of GFR was found in patients with higher periostin scores (-0.19 (IQR -1.21 to 0.46) vs -0.05 (IQR -0.54 to 4.36) mL/min/1.73 m^2/month, p = 0.239).* ***Conclusion:*** *Periostin is markedly induced in glomerular disease and the levels correlated positively with the severity of renal lesions. Periostin staining may serve as a marker of progressive glomerular injury.*

Keywords: ● *Periostin* ● *Glomerulonephritis* ● *IgA nephropathy* ● *Lupus nephritis*

RTA Med J 2014;67:139-48.