LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

HISTOLOGICAL DISTRIBUTION OF MONOCLONAL ANTIBODY 170 (MAb 170) AGAINST ISOLATED RAT GLOMERULAR BASEMENT MEMBRANE (GBM) TO NEWBORN RAT TISSUES

GUN ANANTASOMBOON

With compliments
of

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (ANATOMY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
1997

ISBN 974-589-106-1

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

3837044 SCAN/M MAJOR : ANATOMY;M.Sc. (ANATOMY)
KEY WORD BASEMENT MEMBRANE / MAb 170

GUN ANATASOMBOON: HISTOLOGICAL DISTRIBUTION OF MONOCLONAL ANTIBODY 170 (MAb 170) AGAINST ISOLATED RAT GLOMERULAR BASEMENT MEMBRANE (GBM) TO NEWBORN RAT TISSUES. THESIS ADVISOR: VIJITTRA LEARDKAMOLKARN, Ph.D., REON SOMANA, M D.,Ph D., BOONSIRM WITHYACHUMNARNKUL, M.D.,Ph.D , GALAYANEE DOUNGCHAWEE, M.S 59 P. ISBN 974-589-106-1

Basement membrane is a special form of extracellular matrix that contains a number of protein components, such as collagen IV, laminin, heparan sulfate proteoglycan, fibronectin, entactin and other unidentified proteins. These components serve as structural support and play roles in cell behaviors during development. They also participate in specific functions of some organs such as filtration barrier in the kidney The knowledge of how basement membrane components are organized and how it performs the different functions in such organs are still limited. However, alteration in basement membrane component epitopes expression has been investigated in normal and disease and brought about the discovery of component isoforms Such isoforms were assigned to specific developmental form and disease form.

In attempt to define new components in the basement membrane, monoclonal antibodies against rat glomerular basement membrane were produced in mice. A monoclonal antibody 170 was selected to be characterized for the distribution information, in this study, by immunofluorescence study. Tissues from kidney, lung, liver, small intestine, suprarenal gland and testis were processed for direct and indirect immunofluorescence labeling with MAb 170 and examined under fluorescent microscope. The studies were compared between the newborn and the adult tissues. In the kidney of newborns, the immunofluorescent reaction was presented in a linear pattern along the forming basement membranes of immature and young mature glomeruli, mesangial matrix and throughout the tubular basement membrane In adults, however, the immunoreactivity for MAb 170 in the glomeruli was localized only to the vascular poles and mesangial matrix It was significantly decreased from the peripheral loop glomerular basement membrane (GBM) The localization in the other organs have not showed much difference in the pattern but increased in the intensity once the tissue became mature. In the lung, immunofluorescence labeling of MAb 170 was visualized in the basement membrane of bronchus, bronchiole, pulmonary vessels and the alveolar septum In the liver, mild intensity was observed in the basement membrane of hepatic sinusoid but stronger intensity in the central vein and portal vessels. In the small intestine, the intensity of bound antibody was higher in the intestinal wall than in the crypt and villi structure. In the adrenal gland, bright linear fluorescence intensity was seen around cells in the cortex as well as in the medulla. In the testis, binding of the antibody was less in the basement membrane of newborn seminiferous tubules and parenchymas when compared to the puberty and adult testis. The results suggest that antigen 170 may be the general epitope of a component in the basement membrane of several tissues but it seems to be a specific antigen expressed only in the kidney during developing stage. Whether the loss of this antigen in the adult represent the masking of epitope or a changing in peptide chain of the component is interesting and needs to be further investigated at the molecular level.

3837044 SCAN/M: สาขาวิชา : กายวิภาคศาสตร์; วท.ม (กายวิภาคศาสตร์)

กัญ อนันตสมบูรณ์: การศึกษาแบบแผนการกระจายของ MAb 170 ในเนื้อเยื่อของหนูแรกเกิด (HISTOLOGICAL DISTRIBUTION OF MONOCLONAL ANTIBODY 170 (MAb 170) AGAINST ISOLATED RAT GLOMERULAR BASEMENT MEMBRANE (GBM) TO NEWBORN RAT TISSUES.) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: วิจิตรา เลิศกมลกาญจน์, Ph.D., เรือน สมฉะ, Ph.D., บุญเสริม วิทยชำนาญกุล, Ph.D., กัลลยานี ดวงฉวี, M.S. 59 หน้า. ISBN 974-589-106-1

Basement membrane (BM) เป็นชั้นของสารประกอบภายนอกเซลล์ชนิดหนึ่งซึ่งมีบทบาทต่อเซลล์ตลอดช่วงที่มีการเจริญเติบโต รวมถึงมีส่วนช่วยให้อวัยวะต่างๆได้พัฒนาเพื่อทำหน้าที่เฉพาะแตกต่างกันออกไป เช่นการมีคุณสมบัติทางด้านการกรองสารซึ่งพบได้ที่ไต โปรตีนหลักที่พบอยู่ใน BM ได้แก่ collagen IV, laminin, heparan sulfate proteoglycan, fibronectin, entactin และคาดว่ายังมีโปรตีนชนิดอื่นอีกมากที่ยังไม่ถูกค้นพบ ในปัจจุบันนี้ความรู้เกี่ยวกับ BM ทั้งในเรื่องการจัดเรียงตัวของสารประกอบโปรตีนภายใน BM, ความเกี่ยวข้องกับหน้าที่ของแต่ละอวัยวะ ตลอดจนการสร้างและการหยุดสร้างสารประกอบเหล่านั้นทั้งในภาวะปกติและภาวะที่มีการก่อตัวของโรคยังมีจำกัด

จึงได้มีการทดลองเพื่อติดตามหาตำแหน่งและการกระจายของสารประกอบโปรตีนใหม่ในชั้น BM ด้วยวิธีการทาง Immunofluorescent จากการใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี้ 170 (MAb 170) ที่ผลิตขึ้นจำเพาะเจาะจงกับโปรตีนที่อยู่ภายใน glomerular basement membrane (GBM) ของหนูขาว ทั้งวิธีย้อมโดยตรงเพื่อศึกษาการกระจายของ MAb 170 หลังจากการฉีดแอนติบอดี้เข้าสู่ระบบไหลเวียนของร่างกาย และวิธีย้อมโดยอ้อมเพื่อติดตามหาโปรตีน 170 กับอวัยวะต่างๆเช่นไต, ปอด, ตับ, ลำไส้เล็ก, ต่อมหมวกไตและอัณฑะของหนูขาว โดยทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบระหว่างหนูอายุ 1-3 วันแรกเกิดกับหนูเต็มวัยอายุ 2 เดือน

ผลการทดลองชี้ให้เห็นถึงการกระจายของโปรตีน 170 ในเนื้อเยื่อไตของหนูแรกเกิด เป็นแนวต่อเนื่องที่ชั้น GBM ของ glomerulus ที่กำลังพัฒนารวมถึง mesangium matrix และ tubular basement membrane แตกต่างไปจากไตของหนูเต็มวัยซึ่งย้อมไม่ติดในตำแหน่ง GBM ส่วนอวัยวะอื่นๆไม่มีความแตกต่างกันทางด้านรูปแบบการกระจายของโปรตีน 170 แต่มีความแตกต่างกันด้านความเข้มของปฏิกิริยาอิมมูนซึ่งขึ้นกับปริมาณของแอนติเจนในเนื้อเยื่อ โดยพบว่าจะเพิ่มขึ้นเมื่อหนูมีอายุมากขึ้นจนถึงอายุเต็มวัย ซึ่งสามารถพบโปรตีน 170 ได้ที่ ; BM ของ bronchus, bronchiole, pulmonary vessel และ alveolar septum จากเนื้อเยื่อปอด ; BM ของ central vein, portal vessel และ hepatic sinusoid จากเนื้อเยื่อตับ ; พบในชั้นต่างๆของผนังลำไส้เล็ก มากกว่าส่วน crypt และ villi ; พบอยู่รอบเซลล์ทั้งใน cortex และ medular ของต่อมหมวกไต ; และยังพบอยู่ที่ BM ของ seminiferous tubule และ parenchyma ของเนื้อเยื่อจากอัณฑะ

ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า epitope 170 อาจเป็นส่วนของโปรตีนที่ประกอบอยู่ในชั้น BM ของอวัยวะหลายแห่ง และพบใน GBM เฉพาะช่วงที่กำลังมีการพัฒนาของไตเท่านั้น การหายไปของ epitope 170 ในช่วงอายุเต็มวัยอาจเนื่องมาจาก มีการหยุดสร้างโปรตีน 170 หรือเปลี่ยนแปลงสายโปรตีนไปจากเดิม ซึ่งสมควรที่จะทำการตรวจสอบระดับอณูชีวโมเลกุลในโอกาสต่อไป

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยมหิดล
Copyright by Mahidol University