บทฟื้นฟูวิชาการ

แนวคิดเกี่ยวกับระบบนิวโรเอนโดครายจากอดีตถึงปัจจุบัน

สมบูรณ์ คีลาวัฒน์*

Keelawat S. Neuroendocrine concept. Chula Med J 1997 Jul;41(7): 541-53

The neuroendocrine system consists of dispersed neuroendocrine cells in vaious locations of the body. They may form organs, be in clusters or be single cell among other tissues. In 1869, Paul Langerhans discovered islets cells in the pancreas. He probably was the first person to discover a portion of the neuroendocrine cell system. Since then, the number of known sites in this system has been increasing. Neuroendocrine cells have been known by different names in the literature. During 1968-69, Everson Pearse grouped these cells together under the acronym "APUD" (Amine and Amine-precursors uptake and Decarboxylation) cell system. According to his grouping methodology, APUD cells had common chemical and ultrastructural properties. Less than ten years later, a rival idea called "Paraneuron" was proposed by Fujita. Nowadays, the neuroendocrine concept has again changed. A new set of criteria for neuroendocrine cells was proposed by Keith Langly in 1994. According to him, the embryonal origin of these cells, which was once believed to be neuroectodermal, is now not a requirement. Today, identification of these cells tends to be dependent on the presence of their marker proteins, ***the neuroendocrine markers.***

Key words : *Neuroendocrine cells, APUD cells, Paraneurons.*

Reprint request : Keelawat S. Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. May 15, 1997.

* ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในปัจจุบันนี้ คำนิยามของ neuroendocrine cell system หมายถึงระบบที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มีคุณสมบัติร่วมกันบางอย่าง ได้แก่ การผลิตสารพวก marker proteins หรือฮอร์โมน ซึ่ง แบ่งเป็น general neuroendocrine marker protein และ cell type specific hormone[1] โดยเซลล์เหล่านี้อาจจะกระจายอยู่ตามที่ต่างๆ ทั่วร่างกาย มันอาจอยู่รวมกลุ่มกันเป็นอวัยวะ, เป็นกลุ่มเซลล์เล็กๆ แทรกอยู่ในอวัยวะอื่น หรือ เป็นเซลล์เดี่ยวๆ แทรกอยู่ใน mucosa ของระบบทางเดินหายใจ[2] และทางเดินอาหาร[1] แต่เดิมนั้นเชื่อว่า เซลล์เหล่านี้มีต้นกำเนิดมาจาก neural crest ในระยะ embryo แต่ได้มีการทดลองหลายครั้งพิสูจน์ว่ามี neuroendocrine cells บางชนิดที่ไม่ได้มีต้นกำเนิดมาจาก neural crest[3,4] แนวความคิดในเรื่อง neuroendocrine ได้มีการเปลี่ยนแปลงมาเรื่อยตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน บทความนี้เป็นการทบทวนวรรณกรรมเพื่อให้เกิดความเข้าใจใน concept ของเรื่อง neuroendocrine มากขึ้น

ประวัติความเป็นมา

Neuroendocrine cells นั้นเป็นที่รู้จักกันมากว่าร้อยปี ใน ค.ศ. 1869 Paul Langerhans ค้นพบ islets cells ในตับอ่อน ซึ่งอาจถือได้ว่าเขาเป็นคนแรกที่พบเซลล์ในระบบ neuroendocrine system[5] ปีต่อมา Heidenhain ก็พบ neuroendocrine cells ใน mucosa ของลำไส้ ในปี ค.ศ. 1914 Gosset และ Masson พบวิธีย้อมดูเซลล์เหล่านี้ในลำไส้ โดยใช้เกลือเงิน (เรียกวิธีการย้อมชนิดนี้ว่า argentaffin methods) พวกเขาเรียกเซลล์ที่ติดสี argentaffin ทั้งหมดเหล่านี้ว่า "glande endocrine de L'intestin chez L'homme"[1,5,6] ต่อมาปี ค.ศ. 1932 Hamperl ใช้วิธีการย้อมที่เรียกว่า argyrophilic methods ซึ่งใช้เกลือเงินเหมือนกับวิธีการแรก แต่ได้เพิ่ม ฟอร์มาลิน เข้าไปเป็น reducing agent[7] เขาพบเซลล์ที่มีปฏิกิริยาให้ผลบวกต่อวิธีการย้อมชนิดนี้อยู่ทั้งในและนอกลำไส้เซลล์กลุ่มนี้ (Argyrophillic cells) มีจำนวนมากกว่าในกลุ่มแรก (Argentaffin cells)[5,6] 6 ปีต่อมา (1938) Friedrich Feyrter ได้รายงานการพบเซลล์ที่มีลักษณะติดสีจางทั่วร่างกาย ซึ่งพบมากในทางเดินอาหาร เขาเรียกเซลล์เหล่านี้ว่า "Helle Zelle" เซลล์ที่เขาพบเหล่านี้สามารถสร้างสารที่ทำหน้าที่เป็นทั้งแบบ endocrine และ paracrine คือมีฤทธิ์ต่อเนื้อเยื่อที่ไกลออกไป (endocrine) และเนื้อเยื่อที่อยู่ใกล้ตัวมันเอง (paracrine)[1,5,6,8] เซลล์ต่างๆ ที่ถูกค้นพบและเรียกชื่อต่างๆนานาเหล่านี้ (คือ argentaffin, argyrophile และ Helle Zellen) ต่อมาได้ถูกจัดเป็นส่วนหนึ่งในระบบneuroendocrine cell system[6]

ทฤษฎีที่เป็นหัวเลี้ยวหัวต่อและมีอิทธิพลต่อ concept เกี่ยวกับ neuroendocrine ในปัจจุบัน มีอยู่ 2 ทฤษฎี คือทฤษฎีของ Everson Pearse ซึ่งได้รวบรวมเซลล์กลุ่มหนึ่งที่มีหน้าที่ และคุณสมบัติทางเคมีร่วมกันภายใต้ชื่อ APUD (Amine and amine-precursor uptake and decarboxylation)[6] และทฤษฎีของ Fujita ที่ใช้ชื่อว่า paraneuron [8]

Concept of APUD cell series

หลังจากงานของ Friedrich Feyrter ในปี 1938 แล้ว งานเขียนเกี่ยวกับหัวข้อนี้ก็น้อยลงจนกระทั่ง ในช่วงระหว่างปี 1950 ถึง 1960[8] ได้มีความเจริญก้าวหน้าในสาขาวิชา histochemistry ประกอบกับเริ่มมีการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแพร่หลาย ทำให้ Pearse สามารถจัดรวมกลุ่มเซลล์ที่มีคุณสมบัติทางเคมีและมีลักษณะที่เห็นจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนเหมือนกัน เป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า APUD cell series ซึ่งย่อมาจาก Amine-precursor uptake and

decarboxylation ขึ้นมา[8] เซลล์เหล่านี้มีชื่อเรียกอีกอย่างว่า Polypeptide hormone - producing cells เนื่องจากมันสร้าง polypeptide hormone ซึ่งในปี 1969 ในขณะที่งานของเขาได้รับการตีพิมพ์นั้นมี polypeptide เพียง 5 ชนิดเท่านั้นที่ถูกค้นพบ ได้แก่ adrenocorticotropin hormone (ACTH), insulin, glucagon, calcitonin และ gastrin[8,9]

คุณสมบัติทางเคมีของเซลล์ใน APUD series สรุปได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1. Cytochemical characteristics of Polypeptide hormone - producing cells of the APUD series.[9]

(A)	1.	Fluorogenic amine content (catecholamine, 5-HT[a] or other) ; a, primary; b, secondary uptake
(P)	2.	Amine precursor uptake (5-HTP, DOPA)
(U)		
(D)	3.	Amino acid decarboxylase
	4.	High side chain carboxyl or carboxyamide
	5.	High nonspecific esterase or cholinesterase (or both)
	6.	High alpha-GPD (Alpha-glycerophosphate menadione reductase)
	7.	Specific immunofluorescence

[a]5HT, 5-hydroxytryptamine; 5-HTP, 5-hydroxytryptophan; DOPA, dihydroxyphenylalanine; Alpha-GPD, Alpha-glycerophosphate dehydrogenase.

จากคุณสมบัติทั้ง 7 ข้อนี้ มีเพียง 3 ข้อแรกเท่านั้นที่แสดงคุณสมบัติตามอักษรย่ออันเป็นที่มาของชื่อเรียกเซลล์เหล่านี้คือ APUD (Amine and amine precursor uptake and decarboxylation)[9] กล่าวคือเซลล์เหล่านี้จะเก็บสะสมสารพวก amine ซึ่งได้แก่ catecholamine, 5-HT (5-hydroxytryptamine) และ dopamine ฯลฯ โดยสาร amines พวกนี้ อาจมีอยู่ในเซลล์อยู่แล้วหรือ ไปดึงมาจากนอกเซลล์ (uptake) นอกจากนี้มันยังสามารถดึงสารพวก amine precursors เช่น dihydroxyphenylalanine และ 5-hydroxy-tryptophan (5-HTP) แล้วเปลี่ยนแปลงให้เป็นสาร amines คือ dopamine และ 5-hydroxy- tryptamine (5-HT) โดย enzyme L-aminoacid decarboxylase[6,8,9] การทดลองทำโดยฉีด 5-hydroxy-tryptophan (5-HTP) เข้าไปในตัวสุนัขแล้วฆ่าให้ตายภายใน 4-6 ช.ม. โดยใช้สุนัขอีกกลุ่มหนึ่งซึ่งมีน้ำหนัก,ขนาดและเพศใกล้เคียงกันเป็นกลุ่มควบคุม(control group) หลังจากฆ่าสุนัขตายแล้ว ก็นำเนื้อเยื่อที่ต้องการศึกษาไปแช่แข็งและทำให้แห้งที่อุณหภูมิ -40°C ใน thermo-electric dryer ประมาณ 6-8 ชม. แล้วนำไปโดนไอของ formaldehyde ที่ 50°C เป็นเวลา 1 ชม. ไอระเหยของ formaldehyde จะเปลี่ยนสารพวก amine ไปเป็น fluorescent isoquinoline derivatives ทำให้เห็นเป็นสารเรืองแสงขึ้นมา ผลการศึกษาพบว่า หลังจากฉีด 5-HTP พบมีการเพิ่มขึ้นของ 5-HT fluorescence ที่ B-cells ของ islets of Langerhans และ C-cells ของ

thyroid gland อย่างมาก ส่วน anterior pituitary corticotrophs และ melanotrophs ใน pars intermedia ก็พบมีการเพิ่มของ 5-HT fluorescence เช่นกันแต่น้อยกว่า ในสุนัขกลุ่มควบคุม (ไม่ได้ฉีด 5-HTP) พบสารเรืองแสงนี้แค่จางๆเท่านั้นการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเซลล์เหล่านี้มีการ uptake 5-HTP แล้วมีการเปลี่ยนให้เป็น 5-HT[10] ทำให้เห็นเป็นสารเรืองแสงเพิ่มขึ้นกว่าในกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังมีการทดลองคล้ายๆกันนี้ในสัตว์ชนิดอื่นอีกหลายชนิด[10]

คุณสมบัติต่างๆทั้ง 7 ข้อที่แสดงในตารางที่ 1 นั้นอาจจะไม่จำเป็นต้องมีครบทุกข้อก็ได้ โดยเฉพาะคุณสมบัติข้อที่ 6 ซึ่งก็คือ high level of enzyme Alpha-glycerophosphate dehydrogenase นั้นเป็นคุณสมบัติที่อาจจะไม่จำเป็นต้องพบในเซลล์ทุกชนิดใน APUD series[8,9] สำหรับคุณสมบัติข้อที่ 7 (specific immunofluorescence) นั้น Pearse ถือว่าเป็นคุณสมบัติที่มีความจำเป็นอย่างมาก แสดงให้เห็นว่าเซลล์ใน APUD series เหล่านี้สามารถผลิต specific peptide hormone (ซึ่งใช้ immunofluorescent techniques ในการตรวจ) คุณสมบัติข้อนี้เป็นที่มาของชื่อเรียกอีกอย่างของ APUD cells ว่า “Peptide-hormone-producing cells”[8]

นอกจากคุณสมบัติทางเคมีแล้ว Pearse ยังสรุปคุณสมบัติต่างๆที่พบในการตรวจโดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนของเซลล์พวกนี้ โดยคุณสมบัติที่พบร่วมในเซลล์เหล่านี้ได้แสดงในตารางที่ 2

ลักษณะที่ถือได้ว่าสำคัญที่สุด ในการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน คือ การพบ membrane-bound secretion vesiclesซึ่งมี electron-dense granules อยู่ภายใน[8] Granules เหล่านี้เป็นที่สะสมของสารพวก peptides ต่างๆนั่นเอง สาร peptides เหล่านี้จะถูกหลั่งออกนอกเซลล์โดยขบวนการ exocytosis ซึ่งเป็นวิธีการที่เหมือนกันในเซลล์ทุกชนิดใน APUD series [8]

ตารางที่ 2. Ultrastructural Features Shared by APUD cells.[8,9]

1.	Low levels of rough endoplasmic reticulum
2.	High levels of smooth endoplasmic reticulum in the form of vesicles
3.	High content of free rebosomes
4.	Electron-dense, fixation-labile mitochondria
5.	Prominent microtubules, centrosomes
6.	Tendency to produce fine protein microfibrils
7.	Membrane-bound secretion vesicles best preserved by glutaraldehyde; varying density (average size 100-200 mm)

ในปี 1968 พบว่ามีสมาชิกของ APUD cells เพียง 14 ชนิดเท่านั้นและในจำนวนนี้มีเพียง 5 ชนิดเท่านั้นที่ได้รับการยอมรับโดยไม่มีข้อโต้แย้งใดๆ ว่ามีคุณสมบัติตาม criteria ของ APUD cell series ส่วนที่เหลือนั้นยังรอการพิสูจน์ยืนยันต่อไป[8,9] เซลล์เหล่านี้ได้แสดงใน ตารางที่ 3

จากในตารางเซลล์ในข้อที่ 1 ถึง 5 นั้นได้รับการพิสูจน์ยืนยันว่าเป็นสมาชิกใน APUD series อย่างไม่มีข้อโต้แย้ง และมันผลิต peptide hormones ต่างๆ

ตารางที่ 3. Polypeptide-secreting Endocrine cells (the APUD series).[9]

1.	Pituitary corticotroph (ACTH)
2.	Pituitary melanotroph (MSH)
3.	Pancreatic islet B cell (Insulin)
4.	Pancreatic islet α_2 cell (Glucagon)
5.	Thyroid and extrathyroid C cell (calcitonin)
6.	Stomach-argyrophil cell (Gastrin)
7.	Stomach-enterochromaffin cell (Gastrin, secretin)
8.	Intestine - argyrophil cell (cholecystokinin-pancreozymin)
9.	Intestine-enterochromaffin cell (secretin, glucagon)
10.	Pancreatic islet α_1 cell (Gastrin)
11.	Carotid body type I cell (Glomin)
12.	Lung endocrine (Feyrter) cell (Pneumokinin)
13.	Adrenal medulla A cell (Chromogranin --> medullarin)
14.	Adrenal medulla NA cell (Chromogranin --> medullarin)

ตามที่ได้ระบุไว้ในวงเล็บ ส่วนข้อที่ 6 ถึง 14 นั้นกำลังรอการพิสูจน์ยืนยันต่อไป และยังไม่เป็นที่แน่นอนว่ามันผลิต peptide hormone ที่ระบุอยู่ในวงเล็บในแต่ละข้อหรือไม่

เนื่องจากคุณสมบัติต่างของเซลล์เหล่านี้มีร่วมกัน Pearse จึงคิดว่าเซลล์เหล่านี้น่าจะมีต้นกำเนิดในช่วง embryo มาจาก germ layer ชั้นเดียวกันซึ่งเขาเชื่อว่าเซลล์เหล่านี้มีต้นกำเนิดมาจาก neural crest[8,11] นั่นเอง ทฤษฎีนี้ยังสนับสนุนปรากฏการณ์ที่ว่าเนื้องอกของระบบ neuroendocrine นี้มักเกิดขึ้นในตำแหน่งต่างๆ ของร่างกายพร้อมกันหลายตำแหน่งอีกด้วย[8] อย่างไรก็ตาม Pearse ไม่ได้ใส่คุณสมบัติข้อนี้ไว้ใน criteria ของ APUD cells ของเขา

จำนวนสมาชิกของเซลล์ใน APUD series ได้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆในปี 1979, 10 ปีหลังจากการเสนอทฤษฎีนี้ เซลล์ APUD มีจำนวนถึงกว่า 40 ชนิด[8,12] ในจำนวน 40 ชนิดนี้มีเพียง 6 หรือ 7 ชนิดเท่านั้นที่พิสูจน์ได้ว่ามีต้นกำเนิดมาจาก neural crest[8,11] เซลล์เหล่านี้ได้ถูกแบ่งเป็น central และ peripheral divisions[12] Central division ได้แก่ เซลล์ neuroendocrine และ endocrine ของ hypothalamo-pituitary axis และ pineal gland ในขณะที่ peripheral division ได้แก่ APUD cells ที่อยู่นอกพื้นที่ของ central division นั่นเอง[12] ตารางที่ 4 และ 5 แสดงสมาชิกใน central และ peripheral division ของ APUD cells และสาร peptides และ amines ที่มันผลิตขึ้น

ตารางที่ 4. The central division of the diffuse neuroendocrine system.(12)

Cell type	Peptide products	Amine Products
Pineal	Arginine vasotocin, lutropin releasing hormone	Melatonin 5-Hydroxytryptamine
Hypothalamic magnocellular	Arginine vasotocin, arginine vasotocin	Dopamine Norepinephrine 5-Hydroxytryptamine
Hypothalamic parvocellular	Releasing factors, release inhibiting factors	
Pituitary pars distalis	FSH, LH, TSH STH, PRL, ACTH MSH, B-LPH B-Endorphin Gastrin, calcitonin	Dopamine Norepinephrine 5-Hydroxy-tryptamine Histamine (Tyramine)
Pituitary pars intermedia	ACTH,MSH B-LPH B-Endorphin, calcitonin	

ตารางที่ 5. The peripheral division of the diffuse neuroendocrine system.(12)

Cell type		Peptide products	Amine products
Panereas	B,A	Insulin, glucagon	5-Hydroxytryptamine
	D,D_2(F)	Somatostatin, PP	Dopamine
Stomach	G	Gastrin, Enkeph.,ACTH	-
	AL,	Glucagon	-
	EC_1	Substance P	5-Hydroxytryptamine
	ECL	-	Histamine
	D	Somatostatin	-
Intestine	EC_1	Substance P	5-Hydroxytryptamine, Melatonin
	EC_2(M)	Motilin	-
	L,S,	Glicentin, Secretin	-
	I,D_1(P)	CLK, (Bombesin)	-
	D,K,	Somatostatin, GIP	-
	N	Neurotensin	-
	H	VIP	-
Lung	K (Feyrter)	Bombesin	-
Parathyroid Chief	Parathyrin	-	
Andrenomedullary	E,NE	-	Epinephrine, norepinephrine
Sympathetic	Ganglion	VIP	Norepinephrine
	SIF	-	Dopamine,norepinephrine
Carotid body	Type I	-	Dopamine,norepinephrine
Melanoblast/cyte		-	Premelanin
Thyroid/ultimobranchial	C	Calcitonin, somatostatin	5-Hydroxytryptamine
Urogenital tract	EC	-	-
	V	-	-

- PP, Pancreatic polypeptide; ECL, enterochromaffin; Enkeph., Met-or Leu-enkephalin; SIF, small in tensely fluorescent. Glicentin formerly enteroglucagon.

ยิ่งจำนวนสมาชิกของ APUD cell ถูกค้นพบเพิ่มขึ้น บทบาทของการสร้างสาร peptides ก็ยิ่งมีความสำคัญมากกว่าการสร้างสารพวก amines[6] ซึ่งถือว่าเป็นสิ่งสำคัญในยุคแรกที่ถูกนำเสนอขึ้นมาโดย Pearse[9] ในยุคหลังๆ นี้ definition ของ neuroendocrine จะหมายถึงเซลล์ที่สร้างสาร markers พวก peptide หรือฮอร์โมนต่างๆ[1] โดยที่การสร้างสาร amines ได้ลดบทบาทความสำคัญลงไปจากยุคแรกๆ

The Paraneuron Concept[8]

หลังจาก concept เรื่อง APUD cells ถูกนำเสนอโดย Pearse ราวๆ ปี 1968-69 เกือบๆ 10 ปีต่อมาได้มี concept ใหม่ขึ้นมาซึ่งเจ้าของความคิด ก็คือ Fujita เขาคิดว่าคุณสมบัติทางเคมีคือ amine and amine precursor uptake and decarboxylation นั้นไม่มีความสำคัญสำหรับใช้เป็น criteria ในการจัดกลุ่มเซลล์เหล่านี้ (ซึ่งเขาเรียกเซลล์พวกนี้ว่า "Paraneuron")

คุณสมบัติที่ใช้เป็น criteria สำหรับ Paraneuron ได้แสดงตามตารางที่ 6

ตารางที่ 6. Criteria of Paraneuron.[8,13]

1. A paraneuron is a cell that is able to produce (1) substance (s) identical with, or related to, neurotransmitters or suspected neurotransmitters, and (2) protein /polypeptide substance (s) that may possess hormonal actions
2. A paraneuron is a cell that possess synaptic vesicle-like and/or neuro-secretion-like granules
3. A paraneuron is a cell that is recepto-secretory in function. It releases secretions in response to adequate stimuli acting upon its receptor site on the cell membrane
4. A paraneuron is a cell whose origin is common with neurons, that is, neuroectoderm

จาก criteria ทั้ง 4 ข้อของ Fujita จะเห็นได้ว่าส่วนที่มีความคล้ายคลึงกับ concept ของ Pearse ได้แก่การสร้างสาร polypeptides เหมือนกัน และต้นกำเนิดของเซลล์ซึ่งมาจาก neuroectoderm

สมาชิกของเซลล์ที่เรียกว่า Paraneuron ของ Fujita ได้แก่ เซลล์ต่างๆ ที่แสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7. Main members of the Paraneuron Family.[8]

a. Chromaffin cell of the adrenal medulla.
b. SIF (small intensively fluorescent) cell in autonomic nerve ganglia.
c. Chief cell of the carotid body.
d. Parafollicular cell of the thyroid.
e. Parathyroid cell.
f. Anterior pituitary cell.
g. Pancreatic islet cell.
h. Basal-granulated cell in the gastroenteric mucosa, pancreatic and bile ducts, and urogenital tracts.
I. Gustatory cell.
j. Basal-granulated cell in the bronchial epithelium.
k. Hair cells of the inner ear and lateral line organ.
l. Photoreceptor cells of the retina and pinealocyte.
m. Olfactory cell.
n. Liquor contacting neurons.
o. Merkel cell of the skin.
p. Melanocyte.
q. Mast cell.

อย่างไรก็ตาม Fujita ก็ไม่ได้ให้คำอธิบายที่ชัดเจนในการบอกความแตกต่างระหว่างเซลล์ paraneuron และ neuron

แนวความคิดสมัยใหม่ของ Neuroendocrine cells

ในปี ค.ศ. 1994 Keith langley[8] ได้รวบรวมข้อมูลต่างๆ ซึ่งตีพิมพ์มาตั้งแต่ยุคต้นๆ ของปี 1970 เป็นต้นมา และได้เสนอ criteria ใหม่ของ neuroendocrine cells ซึ่งมี 4 ข้อดังต่อไปนี้

1) Neuroendocrine cells produce a neurotransmitter / neuromodulator or a neuropeptide hormone

2) These substances are contained within membrane-bound granules or vesicles, from which they are released by a process of regulated exocytosis in response to external (neural) stimuli.

3) Neuroendocrine cells differ from neurons by the absence of axons and specialized nerve terminals (i.e. their mode of transmission is endocrine or paracrine rather than synaptic).

4) Different types of neuroendocrine cells share many specific properties and express several proteins in common, but the expression of any one marker protein is not and absolute criterion.

Criteria นี้ได้รับอิทธิพลอย่างสูงมาจาก paraneuron concept ของ Fujita อย่างไรก็ตาม concept นี้ได้บอกความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างเซลล์ประสาทและเซลล์ neuroendocrine โดยความแตกต่างก็คือ เซลล์ neuroendocrine ไม่มี nerve terminals เหมือนในเซลล์ประสาท ซึ่งใน paraneuron concept ไม่ได้บอกความแตกต่างระหว่างเซลล์ประสาท และ paraneurons เอาไว้ นอกจากนี้ criteria ใหม่นี้ไม่ได้รวมเอาต้นกำเนิด ของเซลล์ว่ามาจากที่เดียวกันหรือไม่ (Neuroectoderm) มาเป็น criteria เหมือนใน concept ของ Fujita

ต้นกำเนิดในระยะ Embryo ของ Neuroendocrine cells

ดังได้กล่าวไว้แล้วว่าในยุคแรกๆนั้น มีความเชื่อว่า เซลล์ที่เรารู้จักในนามของ neuroendocrine ในปัจจุบันมีต้นกำเนิดร่วมกันมาจาก neuroectoderm อย่างไรก็ตามข้อมูลจากห้องทดลองหลายแห่งได้แสดงให้เห็นว่าความเชื่อดังกล่าวนั้น ไม่เป็นความจริง การทดลองที่สำคัญที่แสดงว่า neuroendocrine cells ไม่ได้มีต้นกำเนิดมาจาก neuroectoderm (โดยเฉพาะ neural crest) เสมอไปนั้นได้แก่การทดลองของ Ann Andrew [3,14] และ Nicole M. Le Douarin[4,8,15]

Ann Andrew[3] ได้ทำการทดลองโดยนำตัวอ่อนของลูกไก่ตั้งแต่ระยะ primitive streak ถึงระยะ 22-somite มาเป็นสัตว์ทดลอง เขาแบ่งตัวอ่อนของลูกไก่เป็นกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม โดยในกลุ่มทดลองนั้นเขาได้ตัดเอาส่วนที่เป็นหรือคิดว่าน่าจะเป็น neural crest และ neural plate ออกไปจากตัวอ่อนโดยยังคงไว้ในกลุ่มควบคุม ตัวอ่อนทั้ง 2 กลุ่มนี้ถูกเพาะเลี้ยงไว้จนมีอายุราวๆ 18 ถึง 20 วัน นานพอสำหรับเซลล์ enterochromaffin ในลำไส้ที่จะเกิดขึ้นมา

จุดประสงค์ ในการทดลองนี้ต้องการจะพิสูจน์ว่า enterochromaffin cells มีต้นกำเนิดมาจาก neural crest หรือไม่ ถ้าหากว่ามันมีต้นกำเนิดมาจาก neural crest จริง ก็ไม่น่าจะพบเซลล์นี้ในกลุ่มทดลองหลังจากเพาะเลี้ยงไว้ เนื่องจากต้นกำเนิดของมันซึ่งก็คือ neural crest นั้นถูกตัดออกไปก่อนที่มันจะเดินทางมาถึงลำไส้ตั้งแต่ระยะแรกแล้ว

ผลการทดลองพบว่า พบ enterochromaffin

cells ทั้งในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ส่วนเซลล์พวก enteric ganglia นั้น ไม่พบในกลุ่มทดลอง พบเฉพาะในกลุ่มควบคุมเท่านั้น จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเซลล์จาก neural crest ได้เดินทางมาที่ลำไส้ และได้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์พวก enteric ganglia เท่านั้น ไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปเป็น enterochromaffin cells ดังนั้นจึงเป็นข้อพิสูจน์ข้อหนึ่งว่า neuroendocrine cells อาจจะไม่จำเป็นต้องมีต้นกำเนิดจาก neural crest

Nicole Le Douarin และคณะ[4,8,15] ได้ทำการทดลองโดยใช้ตัวอ่อนของนกคุ่มและลูกไก่ พวกเขาตัดส่วนที่เป็น neural crest ของตัวอ่อนของนกคุ่มนำไปปลูกถ่าย (transplant) เข้าไปในตัวอ่อนของลูกไก่ โดยไปแทนที่ neural crest ที่ถูกตัดออกมาจากตัวอ่อนของลูกไก่ การทำเช่นนี้ทำให้สามารถติดตามได้ว่าเซลล์จาก neural crest จะเดินทางไปที่ใดและเจริญพัฒนาไปเป็นเซลล์ชนิดใดบ้าง พวกเขาสามารถแยกแยะเซลล์ของลูกไก่และนกคุ่มได้เนื่องจากรูปร่างลักษณะเซลล์ต่างกัน ในลำไส้นั้นสิ่งที่ค้นพบสอดคล้องกับการทดลองของ Ann Andrew กล่าวคือเซลล์ neural crest ของนกคุ่มที่ใส่เข้าไปแทนที่ของลูกไก่นั้น ได้เดินทางไปที่ลำไส้และกลายไปเป็นเซลล์ enteric ganglia แต่เดินทางไปไม่ถึง mucosa ของลำไส้ที่ซึ่ง enterochromaffin cells อยู่ ในที่นี้ enterochromaffin cells เป็นเซลล์ที่เป็นของลูกไก่เองส่วนเซลล์ enteric ganglia เป็นเซลล์ของนกคุ่ม ดังนั้นจึงสรุปได้เช่นกันว่า enterochromaffin cells นั้นไม่ได้มีต้นกำเนิดมาจาก neural crest อย่างไรก็ตาม การทดลองของ Douarin ก็สามารถพิสูจน์ได้ว่า neuroendocrine cells หลายชนิดมีต้นกำเนิดมาจาก neural crest ตัวอย่างเช่น anterior pituitary cells, caltitonin-secreting cells หรือ parafollicular cells ของต่อมไทรอยด์ เป็นต้น

ข้อมูลจากการทดลองต่าง ๆ เหล่านี้ทำให้ Pearse ซึ่งเดิมเคยเชื่อว่าเซลล์เหล่านี้มีต้นกำเนิดร่วมกันมาจาก neural crest เริ่มมีความคิดเปลี่ยนไป ในระยะหลังเขาได้ดัดแปลงทฤษฎีของเขาใหม่โดยเขากล่าวว่า เซลล์ APUD ทุกชนิดได้ถูกวางโปรแกรมเอาไว้แล้วเพื่อที่จะมาเป็น[8,16] แต่โปรแกรมนี้จะถูกวางตั้งแต่เมื่อใด ยังไม่มีใครทราบ ในปัจจุบันเราทราบกันดีอยู่แล้วว่า เซลล์ที่มี phenotype ต่าง ๆเหมือนกันอาจจะมีต้นกำเนิดมาจากหลาย germ layers ก็ได้ ยกตัวอย่างเช่น collagen เดิมเคยคิดว่าสร้างมาจาก mesoderm ปัจจุบันนี้พบว่า มันถูกสร้างได้จากเซลล์จากทุก germ layers[8]

ในปัจจุบันนี้ต้นกำเนิดของ neuroendocrine cells ไม่ใช่หัวข้อสำคัญสำหรับใช้เป็น criteria อีกต่อไป สิ่งสำคัญอยู่ที่คุณสมบัติที่แสดงออกร่วมกันของมันมากกว่า โดยเฉพาะสารที่มันผลิตขึ้นมา สิ่งที่หลายคนพยายามจะค้นหา เพื่อใช้เป็นคุณสมบัติร่วมของมัน ก็คือ marker proteins ที่สามารถใช้เป็น universal neuroendocrine markers ได้

Markers สำหรับ Neuroendocrine cells

ในยุคแรก ๆ นั้น markers ของ neuroendocrine cells ส่วนใหญ่ได้แก่สารพวก amines และ amine precursors ต่าง ๆรวมทั้ง amino acid decarboxylase, nonspecific esterase หรือ cholinesterase, alpha glycero-phosphate dehydrogenase รวมทั้ง peptide hormones ต่าง ๆ ตาม criteria ของ APUD cells ของ Pearse นั่นเอง[9] เมื่อเวลาผ่านไป markers ของ neuroendocrine cells ก็ถูกค้นพบเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ Markers เหล่านี้ส่วนหนึ่งพบว่าเป็นmarkers ของเซลล์ประสาท ด้วย[8] ทั้งนี้คงเนื่องมาจาก เซลล์ neuroendocrine นั้นมีโครงสร้างหลายอย่างที่คล้ายเซลล์ประสาท นอกจากนี้ markers เหล่านี้ยังนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยเนื้องอกหรือมะเร็งที่มี neuroendocrine differentiation ได้[17,18,19]

Neuroendocrine markers อาจจัดแบ่งตามส่วนต่าง ๆของเซลล์ที่มันเป็นส่วนประกอบได้ดังต่อไปนี้

1. **ส่วนประกอบของซัยโตพลาสซึม ได้แก่**[8]

1.1 L-amino acid decarboxylase

1.2 Acetylcholinesterase

1.3 Neuron-specific enolase (NSE)[17,20]

1.4 Protein gene product (PGP) 9.5[8,21]

1.5 7B2[5]

2. **ส่วนประกอบใน granules ได้แก่**[8]

2.1 Peptide hormones

2.2 HISL-19[1,5]

2.3 Chromogranins A,B[17,18]

2.4 Secretogranin II (Chromogranin C)[5]

2.5 Carboxypeptidase H

2.6 Leu 7[1,5]

3. **ส่วนประกอบที่อยู่ที่เยื่อหุ้ม secretory vesicle**[8]

3.1 Cytochrome b-561

3.2 Amine transporter

3.3 Synaptophysin[18]

3.4 P65 / synaptotagmin

3.5 Synaptobrevin / VAMP

4. **ส่วนประกอบที่ plasma membrane**[8]

4.1 Receptors สำหรับ peptides หรือ สารสื่อประสาท (neurotransmitters เช่น somatostatin, GABA, glycine, glutamate และ tetanus toxin receptors)

4.2 A2B5

4.3 Neural cell adhesion molecules eg., NCAM, L1 [7,22]

Neuroendocrine markers อาจจะแบ่งกลุ่มได้ 2 กลุ่มใหญ่คือ

1) General neuroendocrine markers

2) Cell-specific markers[1,5]

1. **General neuroendocrine markers** ใช้เป็น markers สำหรับ neuroendocrine cells ทั่วไป ไม่ว่าจะมาจากตำแหน่งไหน markers เหล่านี้ได้แก่ cytoplasmic proteins, small secretory vesicles หรือ dense-cored secretory และ plasma membrane

1.1 Cytosolic marker[1,5] **ได้แก่**

Neuron-specific enolase (NSE)[17,20], Protein gene product 9.5 (PGP9.5),7B2[5] ,SV_2

1.2 Small Vesicle - Associated Markers[1,5]

Synaptophysin[18], Synapsin, Synaptotagmin, SV2, Synaptobrevin

1.3 Secretory Granule - Associated Markers[1,5]

Chromogranin A,Band C (Secretogranin II)[17,18], Secretory protein HiSL-19, Leu 7

1.4 Plasma membrane constituents

- Neural cell adhesion molecule (NCAM) [7,22]

ในจำนวน markers ทั้งหลายนี้ chromogranin จัดเป็น markers ที่เป็นสากลที่สุดของ neuroendocrine cells[8] อย่างไรก็ตามยังไม่มี marker ชนิดใดที่สามารถใช้เป็นตัวตัดสินได้ร้อยเปอร์เซ็นต์[8]

2. **Cell specific Markers**[1,5] Markers ชนิดนี้จะพบใน เซลล์ neuroendocrine บางชนิดที่จำเพาะ ไม่ได้มีในเซลล์ neuroendocrine ทั่วไปเหมือนกับ general markers มันคือพวก peptides และ biogenic amines ที่ทำหน้าที่เป็นฮอร์โมนและสาร neuro-transmitters นั่นเอง

วิธีการตรวจหา Neuroendocrine cells

มีวิธีการต่างๆสำหรับตรวจหา neuroendocrine cells นอกเหนือจากการดูจากรูปร่างของเซลล์โดยการย้อมธรรมดา วิธีเหล่านี้ได้แก่[7]

1) Special histological stains
2) Immunocytochemistry
3) Electron microscope
4) อื่นๆ

1) Special histological stains

ในยุคแรกๆนั้นการตรวจหาเซลล์พวกนี้มักใช้วิธีต่างๆเหล่านี้ เช่น lead haematoxylin, toluidine blue และ silver impregnation tecniques ซึ่งยังคงใช้อยู่ในปัจจุบันนี้และมันประกอบด้วยวิธีหลักๆ อยู่ 2 วิธี ได้แก่

1.1 Argentaffin methods หลักการก็คือ silver salts ที่ใส่ลงไปจะถูกสารพวก amines ที่มีอยู่ใน neuroendocrine cells ทำการ reduce ทำให้เกิดตะกอนสีน้ำตาลภายในเซลล์

1.2 Argyrophilic methods มีการเพิ่มสารฟอร์มาลินเพิ่มลงไปเพื่อให้มันเป็นตัวไป reduce silver ions

นอกจากนี้เซลล์ neuroendocrine บางชนิดก็อาจมีวิธีการเฉพาะในการตรวจหา ตัวอย่างเช่น การใช้ potassium dichromate หรือ chromic acid ทำการ fix เซลล์พวก paraganglia ทำให้ได้ตะกอนเม็ดสีน้ำตาลหรือเหลือง เม็ดสีเหล่านี้เกิดจากการ oxidation สารพวก catecholamines หรือ serotonin ในเซลล์นั่นเอง เซลล์ที่ให้ผลบวกต่อปฏิกิริยานี้เรียกว่า "Chromaffin-positive cells" ซึ่งเซลล์เหล่านี้ ได้แก่ paraganglia และ entero- chromaffin cells ในลำไส้[6]

วิธีการตรวจหาเซลล์ neuroendocrine ที่จะกล่าวในที่นี้อีกวิธี ได้แก่การ fix เซลล์ด้วย formaldehyde ซึ่งจะทำให้เซลล์เกิดมีการเรืองแสงสีเขียวเหลืองขึ้นมา เนื่องจาก formaldehyde ทำปฏิกิริยากับสาร amines ในเซลล์ ทำให้เกิดสารเรืองแสง (fluorescent products) ขึ้นมา[6]

2) Immunocytochemistry[7]

วิธีนี้ใช้ตรวจโปรตีนที่เป็น markers ต่างๆดังได้กล่าวไว้ข้างต้นโดยใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่อโปรตีนเหล่านี้มาทำปฏิกริยากับมัน แอนติบอดีเหล่านี้จะมีสารที่เป็นเหมือนกับฉลากติดอยู่เพื่อให้มันถูกมองเห็นได้โดยง่าย ในกรณีที่มันทำปฏิกริยากับโปรตีนที่เป็น markers ที่จำเพาะเหล่านั้น Markers ของเซลล์ neuroendocrine ประกอบไปด้วย general markers และ cell-specific markers ดังเช่นได้ยกตัวอย่างไว้แล้ว

3) Electron microscopy[1,5]

สิ่งสำคัญที่เห็นได้จากการตรวจด้วย กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนได้แก่ การเห็น membrane bound, dense-core secretoty granules (เส้นผ่าศูนย์กลาง > 80 mm) ใน cytoplasm นอกจากนี้ก็ยังเห็น small clear vesicles (เส้นผ่าศูนย์กลาง 40 - 80 mm) ซึ่งจะเหมือนกับ synaptic vesicles ของเซลล์ประสาท(23)

4) วิธีการอื่นๆ เช่น localization of receptor (binding) sites, localization of mRNAs (in situ hybridization) หรือการตรวจหาระดับฮอร์โมนต่างๆจากในเลือดเป็นต้น

สรุป

นับตั้งแต่ Paul Langerhans ได้ค้นพบ islets cells ในตับอ่อนเมื่อกว่าร้อยปีมาแล้ว สมาชิกของเซลล์ที่เราเรียกว่า neuroendocrine ในปัจจุบันก็ถูกค้นพบเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ โดยอาจถูกเรียกชื่อต่างๆ ในแต่ละยุคโดยผู้ค้นพบแต่ละคนไม่เหมือนกันเช่นเรียกเป็น argentaffin cells , argyrophillic cells หรือ Helle

Zelle ตลอดจนเป็น APUD cells, peptide-hormone-producing cells, หรือ paraneuron เป็นต้น

ได้มีความพยายามที่จะให้คำนิยามและหาคุณสมบัติที่แสดงร่วมกันของเซลล์เหล่านี้เพื่อที่จะสามารถรวบรวมจัดระบบให้เป็นหนึ่งขึ้นมา ทฤษฎีที่สำคัญคือ APUD cells concept ของ Pearse และ paraneuron ของ Fujita ซึ่งเป็นทฤษฎีที่มีผลต่อconceptในปัจจุบันนี้ Keith Langley ได้รวบรวมข้อมูลตั้งแต่ยุคต้นๆ ของปี 1970 เป็นต้นมาแล้วสรุปเป็น Criteria ใหม่ขึ้นมา

ในปัจจุบัน เซลล์เหล่านี้ได้ถูกรวบรวมจัดอยู่ในระบบเดียวกันภายใต้ชื่อว่า neuroendocrine cell system โดยที่เซลล์ เหล่านี้กระจายอยู่ในที่ต่างๆ ทั่วร่างกาย มันอาจอยู่รวมกลุ่มเป็นอวัยวะขึ้นมาหรืออยู่เป็นกลุ่มเซลล์เล็กๆ หรือเป็นเซลล์เดี่ยวแทรกอยู่ระหว่างเซลล์ชนิดอื่นก็ได้ แม้ว่ามันจะอยู่ในตำแหน่งต่างๆทั่วร่างกายแต่มันได้ถูกจัดอยู่ในระบบเดียวกันเนื่องจากมันมีคุณสมบัติที่เหมือนกัน ได้มีการพิสูจน์แล้วว่าเซลล์เหล่านี้ไม่ได้มีต้นกำเนิดมาจาก germ layers เดียวกัน มันอาจจะกำเนิดมาจาก germ layers ชั้นไหนก็ได้ แต่ที่สำคัญมันมีโปรแกรมอยู่ในตัวอยู่แล้วที่จะเป็น neuroendocrine cells โปรแกรมนี้เกิดขึ้นเมื่อใดยังไม่มีใครทราบ การตรวจหา neuroendocrine cells ปัจจุบันนี้เน้นไปที่ markers ของเซลล์ แต่ยังไม่มี markers ตัวไหนที่สามารถใช้เป็น absolute criteria สำหรับเซลล์พวกนี้ได้ การศึกษาในอนาคตคงสามารถให้คำตอบ

อ้างอิง

1. Kloppel G, Heitz PU. Classification of normal and neoplastic neuroendocrine cells. Ann NY Acad Sci 1994 Sep 15; 733: 19-23
2. Kobzik L, Schoen FJ. The lung. In: Cotran RS, Kumar V, Robbins SL,eds. Robbins Pathologic Basis of Disease,edn5. Philadelphia: W.B. Saunders,1994:726-7
3. Andrew A. A study of the developmental relationship between enterochromaffin cells and the neural crest. J Embryol Exp Morphol. 1963 Jun;11(2): 307-24
4. Fontaine J, Le Douarin NM. Analysis of endoderm formation in the avian blastoderm by the use of quail-chick chimaeras. The problem of the neuroectodermal origin of the cells of the APUD series. J Embryol Exp Morph 1977; 41 Oct: 209-22
5. Capella C, Heitz PU, Hofler H, Solcia E, Kloppel G. Revised classification of neuroendocrine tumors of the lung, pancreas and gut. Digestion 1994; 55 Suppl 3: 11-23
6. Delellis RA , Dayal Y. Neuroendocrine system. In: Sternberg SS ed., Histology for Pathologists. 1st ed New York : Raven press1992: 347-62
7. Bishop AE, Polak JM. Modern morphological and other investigative methods. In: Polak JM, ed. Diagnostic Histopatholagy of Neuroendocrine Tumours. Edinburgh : Churchill Ligingstone, 1993: 1-14
8. Langley K. The neuroendocrine concept today. Ann NY Acad Sci 1994 Sep 15; 733: 1-17
9. Pearse AGE. The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone-producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. J Histochem Cytochem 1969 May; 17(15):303-13

10. Pearse AGE. 5-Hydroxytryptophan uptake by dog thyroid "C" cells, and its possible significance in polypeptide hormone production. Nature 1966 Aug 6; 211(49): 598-600
11. Erlandson RA, Nesland JM. Tumors of the endocrine/ neuroendocrine system: An overview. Ultrastructural Pathology 1994 Jan - Apr; 18(1-2): 149-70
12. Pearse AGE, T Takor Takor. Embryology of the diffuse neuroendocrine system and its relationship to the common peptides. Fed Proc 1979 Aug;38(9):2288-94
13. Burkitt HG, Young B, Heath JW. Wheater's Functional Histology,edn3. Hong Kong: Churchill livingstone,1993:320-1
14. Andrew A. Further evidence that enterochromaffin cells are not derived from the neural crest. J Embryol Exp Morph. 1974; 31(3) : 589-98.
15. Le Douarin NM. The ontogeny of neural crest in avian embryo chimaeras. Nature1980 Aug;286(5774):663-8
16. Pearse AGE. Islets cell precursors are neurons. Nature 1982 Jan;295(5845):96-7
17. Overholt SM, Donovan DT, Schwartz MR, Laucirica R, Green LK, Alford BR. Neuroendocrine neoplasms of the larynx. Laryngoscope 1995 Aug;105(8 pt 1): 789-94
18. Gosney JR, Gosney MA, Lye M, Butt SA. Reliability of commercially available immunocytochemical markers for identification of neuroendocrine differentiation in bronchoscopic biopsies of bronchial carcinoma. Thorax 1995 Feb;50(2):116-20
19. Gown AM, Leong AS-Y. Immunohistochemistry for the Surgical Pathologist. London:Edward Arnold,1993:79-80
20. Ioachim HL, Pambuccians, Giancottif, Dorsett B. Reactivity of lung tumors with lung-derived and non-lung-derived monoclonal antibodies. Int J Cancer 1994; Suppl 8:132-3
21. Thompson RJ, Doran JF, Jackson P, Dhillon AP, Rode J. PGP9.5 - a new marker for vertebrate neurons and neuroendocrine cells. Brain Research 1983; 278: 224-8
22. Lloyd RV. The neuroendocrine and paracrine systems. In: Sternberg SS, Antonioli DA, Mills SF, Carter D, Oberman HA,eds. Diagnostic Surgical Pathology,2nd ed. New York:Raven Press, 1994:561-70
23. Anhert-Hilger G, Studtbaumer A, Strubing C, Scherubl H, Schultz G, Riecken EO, Wiedenmann B. Gamma-Aminobutyric acid secretion from pancreatic neuroendocrine cells. Gastroenterology 1996 May;110(5):1595-604