

ชื่อโครงการ การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหม
สำหรับการปลูกถ่ายผิวหนัง

ชื่อผู้วิจัย ดร. พรอนงค์ อร่ามวิทย์¹

ดร. โสธดา กนกพานนท์²

ดร. นิมิตร วรกุล³

ดร. วีระพล ศรีชนะ⁴

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปี 2551 จำนวนเงิน 1,166,000.00 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ กันยายน 2551 ถึง สิงหาคม 2552

โปรตีนจากกาวไหมที่เรียกว่า เซรีซิน (sericin) เป็นโปรตีนที่มีหน้าที่เชื่อมเส้นไหมให้ติดกันในรังไหม ในกระบวนการสาวไหมก่อนทำการสาวเป็นเส้นใย ผู้ผลิตจะต้องนำรังไหมไปต้มในน้ำร้อนเสียก่อนเพื่อกำจัด กาวไหม โปรตีนที่ได้จากกาวไหมมีส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่สำคัญต่อร่างกายสูง แข็งตัวเป็นเจลที่มีความแข็งแรงและยืดหยุ่นต่าง ๆ กันได้ตามอุณหภูมิในการผลิตและสารประกอบรวมอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมี คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและดูดซับน้ำได้ดีจึงสามารถทำให้ผิวหนังชุ่มชื้นอันเป็นคุณสมบัติที่ดีในการนำมาใช้กับบาดแผลเนื่องจากจะทำให้ผู้ป่วยเกิดความเจ็บปวด น้อยลง นอกจากนี้เซรีซินยังสามารถกระตุ้นการสร้างและเพิ่มการยึดเกาะกันของเซลล์สร้างเส้นใยผิวหนังของมนุษย์ เพิ่มการสร้างคอลลาเจนทำให้บาดแผลในหนูทดลองหายได้รวดเร็วขึ้น ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงเห็นความเป็นไปได้ในการพัฒนาแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผลจากโปรตีนกาวไหมสำหรับการปลูกถ่ายผิวหนัง

โครงการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกโปรตีนกาวไหมจากสายพันธุ์ไหมไทยที่มีคุณสมบัติเหมาะสม และคัดเลือกวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังมีการคัดเลือกสารประกอบรวมอื่น ๆ (โพลีเมอร์) ที่จะนำมาใช้สร้างแผ่นเนื้อเยื่อ และศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและชีวภาพของแผ่นเนื้อเยื่อปิดแผล โดยเริ่มดำเนินการจากการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของไหมไทย พิจารณาคุณสมบัติในการละลาย ปริมาณของกรดอะมิโนในโปรตีนกาวไหมที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ คุณสมบัติในการเกิดเจล คุณสมบัติทางชีวภาพของโปรตีนกาวไหม เช่น ความเข้ากันได้กับเซลล์ การกระตุ้นสารก่อการอักเสบอันได้แก่ Interleukin (IL) และ Tumor necrosis factor- α (TNF- α) หลังจากนั้นทำการคัดเลือกโพลีเมอร์ที่เหมาะสมที่จะนำมาทำเป็นแผ่นเนื้อเยื่อ (scaffold) ทำการขึ้นรูปโพลีเมอร์ผสมโปรตีนกาวไหมด้วยวิธี freeze-drying จนได้แผ่นเนื้อเยื่อที่

ต้องการคือมีความพรุนสูง มีความยืดหยุ่นดี ดูดซับน้ำได้เหมาะสม อากาศสามารถถ่ายเทได้สะดวกและสามารถควบคุมการปลดปล่อยโปรตีนกาวไหมได้เพื่อใช้ในการทดสอบทางชีวภาพและในสัตว์ทดลองต่อไป

ผลการศึกษาวิจัยพบว่า รังไหมจากไหมสายพันธุ์ไทยที่ผ่านการคัดเลือกจำนวน 4 สายพันธุ์ได้แก่ สายพันธุ์จุล 1/1 (รังไหมสีขาว) จุล 3/2 (รังไหมสีเขียว) จุล 4/2 (รังไหมสีเหลือง) และพันธุ์นางน้อยศรีสะเกษ (รังไหมสีเหลือง) เมื่อทำการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ กันอันได้แก่ การสกัดด้วยความร้อน การสกัดด้วยกรด การสกัดด้วยด่างและด้วยสารละลายยูเรียจะได้โปรตีนกาวไหมที่มีปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดและคุณสมบัติทางกายภาพแตกต่างกัน แต่ยังคงประกอบด้วยกรดอะมิโน serine เป็นปริมาณสูงสุด รองลงมาได้แก่ aspartic acid และ glycine ตามลำดับ โปรตีนกาวไหมจากไหมสายพันธุ์จุล 1/1 ที่สกัดด้วยความร้อนสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ผิวหนังและการสร้างคอลลาเจนจากเซลล์ได้สูงสุด อีกทั้งยังกระตุ้นการสร้างสารก่อการอักเสบอันได้แก่ interleukin และ TNF- α ได้ต่ำที่สุด นอกจากนี้สายพันธุ์จุล 1/1 เป็นสายพันธุ์เดียวที่ให้โปรตีนกาวไหมซึ่งมีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เซลล์สร้าง nitric oxide ได้ โดย nitric oxide ที่ถูกสร้างขึ้นมีปริมาณต่ำซึ่งปริมาณดังกล่าวอาจเป็นประโยชน์ในการกระตุ้นการสร้างโปรตีนและคอลลาเจนจากเซลล์มากกว่าที่จะก่อให้เกิดความเป็นพิษ ดังนั้นจึงเป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้พัฒนาแผ่นเนื้อเยื่อต่อไป

จากการทดสอบโพลิเมอร์ต่าง ๆ พบว่า polyvinyl alcohol เป็นโพลิเมอร์ที่เหมาะสมในการนำมาใช้ขึ้นรูปแผ่นเนื้อเยื่อร่วมกับโปรตีนกาวไหมเซรีซิน โดยอัตราส่วนที่เหมาะสมประกอบไปด้วยโปรตีนกาวไหม 3 ส่วนและ polyvinyl alcohol 2 ส่วน เมื่อนำมาขึ้นรูปโดยใช้เครื่อง freeze-dryer พบว่าแผ่นเนื้อเยื่อที่ได้มีความเรียบเนียน ยืดหยุ่นดี ไม่มีการแยกส่วน และเมื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของแผ่นดังกล่าวโดยใช้กล้อง scanning electron microscope ปรากฏชัดพบว่า แผ่นเนื้อเยื่อดังกล่าวมีลักษณะเป็นรูพรุนสม่ำเสมอ แต่ละช่องรูพรุนมีการเชื่อมต่อกันซึ่งเป็นลักษณะที่เหมาะสมต่อการเคลื่อนตัวของเซลล์เนื้อเยื่อเพื่อการสมานแผลซึ่งจะทำการทดสอบในขั้นต่อไป

Title Physical and biological properties of silk sericin scaffolds for skin grafting

Researcher

1. Pornanong Aramwit, Pharm.D., Ph.D., Associate Professor
2. Sorada Kanokpanont, Ph.D., Assistant Professor
3. Nimit Worakul, Ph.D., Assistant Professor
4. Teerapol Srichana, Ph.D., Associate Professor

Budget 1,166,000.00 Baht

Period 1 year from September 2008 to August 2009

Silk sericin is a gumming protein in silkworm cocoons. Normally, sericin will be extracted out by heat during silk-waving process and then discarded. Since sericin composes of many essential amino acids, it also can form gel and has many biological activities such as anti-oxidant, anti-bacterial and moisture absorption, sericin may be a good material for wound healing. Moreover, many works show that sericin can activate the growth and attachment of fibroblast cells as well as collagen production.

The objectives of this work are to study physical and biological activities of silk sericin from Thai silk strain such as its amino acid content, gel forming property, cell-growth promotion, activate collagen production and pro-inflammatory cytokines activation. We also would like to select the appropriate extraction method of sericin for medical use. After forming silk sericin scaffold with polymers by freeze-drying, its physical and biological properties such as its elasticity, porosity and release of sericin from scaffold will be further investigated.

We found that the sericin obtained from four Thai silk strains, Chul 1/1 (white shell cocoon), Chul 3/2 (greenish shell cocoon), 4/2 (yellow shell cocoon) and Nangnoi (yellow shell cocoon) with different extraction methods (heat, acid, alkaline and urea extraction) composes of various amino acid content and different physical property. However, serine is still the most common amino acid found in sericin followed by aspartic acid and glycine, respectively. Sericin

obtained by heat extraction from Chul 1/1 strain can promote the highest fibroblast cell proliferation and collagen production as well as the lowest pro-inflammatory cytokines activation (interleukin and tumor necrosis factor- α) compared to sericin from other silk strains. Moreover, sericin from Chul 1/1 strain is the only type which can activate small amount of nitric oxide production from cell. The level of nitric oxide generated from cell is low enough to activate protein and collagen synthesis without showing any toxicity. From these data, silk sericin obtained by heat extraction from Chul 1/1 will be selected for scaffold formation and future studies.

We also found that polyvinyl alcohol is a good candidate for sericin scaffold formation at the ratio of 2:3 for polyvinyl alcohol and sericin, respectively. After freeze-drying process, the sericin scaffold shows smooth and homogenous structure with good elasticity. The cross section photos by scanning electron microscope (SEM) indicate homogenous porosity and interconnected between pores which are the good property for cell migration during wound healing process.