THE FOUNDING POPULATION AND THE CRITICAL FACTOR REQUIRED FOR THE ESTABLISHMENT OF ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS

SAKCHAI SUDCHADA 5037171 SIIM/M

M.Sc. (IMMUNOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE : SURAPOL ISSARAGRISIL, M.D., F.R.C.P., F.A.C.P., F.R.A.C.P., F.R.C.Path, PAKPOOM KHEOLAMAI, M.D., Ph.D, YAOWALAK U-PRATYA, M.Sc.

ABSTRACT

Recent studies revealed that EPCs have been successfully isolated from the MNCs of both peripheral blood (PB) and umbilical cord blood (UCB). However, UCB-MNC population -which is the founding population of EPCs - and the critical factors which are required for the establishment of EPC colonies from UCBs had still not been identified.

In this study, the founding population of EPCs was identified. Four fractions of cell subpopulations including $CD14^+$, $CD14^-$, $CD14^-/CD34^-$ and $CD14^-/CD34^+$ were immuno-magnetically separated and their abilities investigated in forming EPC colonies. In addition, the soluble factors, that play the critical role in EPC generation, were also determined using ELISA and functional assays.

Consequently, the EPC colonies could only be observed in $CD14^-$ and $CD14^-/34^+$ subpopulations which were co-cultured with $CD14^+$ cells in both transwell and direct co-cultures. The result of cytokine screening has demonstrated that the angiogenin (ANG) might be required for the generation of EPC colonies. The functional assays of ANG revealed that it was the critical factor in EPC generation in $CD14^-$ subpopulation cultures and exhibited increased colony numbers of EPCs in $CD14^-/34^+$ subpopulation cultures, while the neutralizing of ANG could not completely inhibit the generation of EPC colonies. Taken together, this study demonstrates that the $CD14^-/CD34^+$ subpopulation is the founding population of EPCs while $CD14^+$ subpopulation is the source of cytokine “ANG” which is one of the critical factors that is required for the establishment of EPCs in UCB samples.

KEY WORDS: ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS/ ORIGIN/ ANGIOGENIN

65 pages

การค้นพบกลุ่มประชากรเซลล์และปัจจัยสำคัญที่จำเป็นสำหรับการเกิดขึ้นของเซลล์ต้นกำเนิดหลอดเลือด THE FOUNDING POPULATION AND THE CRITICAL FACTOR REQUIRED FOR THE ESTABLISHMENT OF ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS

ศักดิ์ชัย สุดชะดา SIIM/M 5047171

วท.ม. (วิทยาภูมิคุ้มกัน)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : สุรพล อิสรไกรศีล, M.D., M.D., F.R.C.P., F.A.C.P., F.R.A.C.P., F.R.C.Path, ภาคภูมิ เขียวละม้าย, M.D., Ph.D. เยาวลักษณ์ อู่ปรัชญา, M.Sc.

บทคัดย่อ

จากการศึกษาที่ผ่านมาประสบผลสำเร็จในการแยก EPCs จากเซลล์โมโนนิวเคลียร์จากเลือดและเลือดจากสายสะดือทารก ถึงอย่างไรก็ตามในตัวอย่างของเลือดจากสายสะดือทารกยังไม่มีการศึกษาแน่ชัดว่า กลุ่มประชากรเซลล์และไซโตไคน์ กลุ่มใดที่เป็นต้นกำเนิดและมีความสำคัญต่อการเกิดขึ้นของโคโลนี EPCs ที่ผ่านมามีรายงานสำคัญที่ว่า เมื่อมีการแยกเลี้ยงกลุ่มประชากรเซลล์ $CD14^+$ และ $CD14^-$ จะไม่สามารถตรวจพบโคโลนีของ EPCs บนจานเลี้ยงเซลล์ได้

ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งไปที่การค้นหากลุ่มประชากรเซลล์และปัจจัยสำคัญต่อการเกิดขึ้นของ EPCs วิธีการทดลองคือ นำเซลล์ทั้งสี่กลุ่มคือ $CD14^+$, $CD14^-$, $CD14^-/CD34^-$ และ $CD14^-/CD34^+$ ที่แยกได้โดยอาศัยหลักการทางด้านวิทยาภูมิคุ้มกัน (immune-magnetic cell sorting) มาเลี้ยงทั้งแบบร่วมกันและแยกกัน บนจานเลี้ยงเซลล์แบบ transwell และแบบปกติ ร่วมกับการศึกษาไซโตไคน์ที่หลั่งออกจากกลุ่มประชากรเซลล์ต่างๆ

จากการทดลองพบว่ามีเฉพาะกลุ่มเซลล์ $CD14^-$ และ $CD14^-/34^+$ ที่ทำการเลี้ยงร่วมกับกลุ่มประชากรเซลล์ $CD14^+$ แบบ transwell และ direct co-cultures ที่สามารถตรวจพบโคโลนีของ EPCs บนจานเลี้ยงเซลล์ ขณะที่การตรวจสอบชนิดของไซโตไคน์พบว่า angiogenin อาจจะมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดโคโลนีของ EPCs จากการศึกษาบทบาทของไซโตไคน์ชนิดนี้พบว่ามีบทบาทในการช่วยสร้างโคโลนีของ EPCs จากการเลี้ยงกลุ่มประชากรเซล์ $CD14^-$ และยังมีบทบาทในการเพิ่มจำนวนโคโลนีของ EPCs ในการเลี้ยงกลุ่มประชากรเซลล์ $CD14^-/34^+$ ขณะที่เมื่อบดบังการทำงานของไซโตไคน์ชนิดนี้โดยการบล็อคจะไม่มีผลยับยั้งการสร้างโคโลนีของ EPCs ระหว่างการเลี้ยง $CD14^-$ ร่วมกับ $CD14^+$ แบบ transwell co-culture จากทั้งหมดสรุปได้ว่า $CD14^-/34^+$ เป็นกลุ่มประชากรเซลล์ที่เป็นแหล่งของ EPCs และ angiogenin คือหนึ่งในปัจจัยสำคัญต่อการเกิดขึ้นของ EPCs ในตัวอย่างเลือดที่ได้จากสายสะดือทารก

65 หน้า