

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5380153

ชื่อโครงการ: การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซนไคม์ที่ได้จากไขกระดูกและเนื้อเยื่อไขมันของสุนัขเพื่อเป็นเซลล์ประสาท

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน: ผศ.น.สพ.ดร. วีรวัฒน์ ธาราศานิต และคณะ ภาควิชาสัตวศาสตร์ เชนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อีเมล: Theerawat.t@chula.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ:

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (MSCs) เป็นเซลล์ที่มีความสามารถในการเจริญเพิ่มจำนวนและสามารถพัฒนาเป็นเซลล์จำเพาะหลายชนิดโดยเฉพาะเซลล์ในกลุ่มเนื้อเยื่อชั้นกลาง อย่างไรก็ตามมีข้อจำกัดของข้อมูลการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาของเซลล์ต้นกำเนิด MSCs ให้เป็นเซลล์ประสาท การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิด MSCs ที่เก็บจากไขกระดูกและเนื้อเยื่อไขมันของสุนัขต่อประสิทธิภาพการเจริญพัฒนาเป็นเซลล์ประสาท ทำการเก็บตัวอย่างจากไขกระดูกและเนื้อเยื่อไขมันจากสุนัขจำนวน 4 ตัว ทำการเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวน ทำการย่อยเซลล์เป็นเซลล์เดี่ยวและเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนจำนวน 3 ครั้ง นำเซลล์ที่ได้มาตรวจโปรตีนบนผิวเซลล์ได้แก่ CD 34 CD 44 และ CD 90 ด้วยโฟว์ไซโตเมทรี ทำการตรวจคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ด้วยการกระตุ้นให้เซลล์พัฒนาเป็นเซลล์ในกลุ่มเนื้อเยื่อชั้นกลาง ได้แก่การเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์กระดูกและเซลล์ไขมัน นำเซลล์ไลน์จำนวน 4 เซลล์ไลน์ที่มาจากทั้งไขกระดูกและเนื้อเยื่อไขมันมากกระตุ้นให้เป็นเซลล์ประสาท โดย 7 วันแรกใส่โกรทแฟคเตอร์ ชนิดอิพิเดอร์มอล และ เบสิคไฟโบรบลาส เพื่อให้เกิดการรวมกลุ่มของเซลล์ประสาท (neurospheres) จากนั้นย่อยเซลล์ออกจาก neurosphere เป็นเซลล์เดี่ยวและเลี้ยงเซลล์ในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ประสาทที่ปราศจากโกรทแฟคเตอร์นาน 5 วัน ก่อนเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจประสิทธิภาพการพัฒนาของเซลล์ประสาท การศึกษาครั้งนี้พบว่าเซลล์ที่เก็บได้จากทั้งไขกระดูกและเนื้อเยื่อไขมันแสดงออกโปรตีนบนผิวเซลล์ชนิด CD 40 และ CD 90 ในระดับสูง แต่แสดงออก CD 34 น้อย แสดงว่ามีการปนเปื้อนของเซลล์ต้นกำเนิดเล็กน้อยมาก (น้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์) โดยเซลล์ที่ได้นี้มีคุณสมบัติเป็นเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ซึ่งตรวจได้จากคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นเซลล์ในกลุ่มเซลล์กระดูกและเนื้อเยื่อไขมันเมื่อทำการกระตุ้นในงานเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ยังเปลี่ยนแปลงข้ามชนิดเนื้อเยื่อให้เจริญพัฒนาเป็นเซลล์ประสาทได้ แต่มีประสิทธิภาพที่แตกต่างกัน เทคนิคการเปลี่ยนเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ให้เป็นเซลล์ประสาทมีแนวโน้มเจริญเป็นเซลล์แอสโตรไซต์มากกว่าจะเป็นเซลล์ประสาทชนิดอื่นๆ

คำหลัก : สุนัข เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ เซลล์ประสาท

Abstract

Project Code: MRG5380153

Project Title: Neuronal differentiation of canine mesenchymal stem cells isolated from bone marrow and adipose tissue

Investigator: Theerawat Tharasanit et al. Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University

E-mail Address: Theerawat.t@chula.ac.th

Project Period: 2 years

Abstract:

Mesenchymal stem cells (MSCs) have a unique capability to multiply and differentiate into specialized cell types especially the mesodermal lineage. However, information on differentiation of the MSCs into neurons has been limited. This study aimed at examining the capability of mesenchymal stem cells isolated either from bone marrow or from adipose tissue on neuronal differentiation. The bone marrow contents and adipose tissues were collected from 4 dogs. The putative MSCs were cultured and passaged. On passage 3, they were disaggregated and examined for cell surface proteins CD 34, CD 44 and CD 90 using flow cytometry. They were also chemically induced to differentiate into osteogenic and adipogenic lineages. Two-step neuronal differentiation protocol was used in this study. The MSCs were cultured in preneuronal differentiation medium containing basic fibroblast growth factor (bFGF) and epidermal growth factor (EGF) for 7 day in order to allow the neurons to aggregate as a neurosphere. The neurospheres were trypsinized and the single cells were further cultured in neuronal medium without the two growth factors for additional 5 days.

In this study, we found that cells isolated from bone marrow and adipose tissue highly expressed mesenchymal stem cell markers (CD 44 and CD 90), while the expression of the hemopoietic stem cells were found to be rare (CD 34, less than 5 %). These MSCs irrespective the origin of cells were able to differentiate into osteogenic and adipogenic lineages. In addition, they also demonstrated to transdifferentiate into neuronal lineage but the efficacy appeared to differ when compared between the bone and adipose tissue derived MSCs. By using the specific neuronal differentiation, the MSCs tended to differentiate into astrocyte rather than other neuronal lineages.

Keywords: Canine, Mesenchymal stem cells, neuron