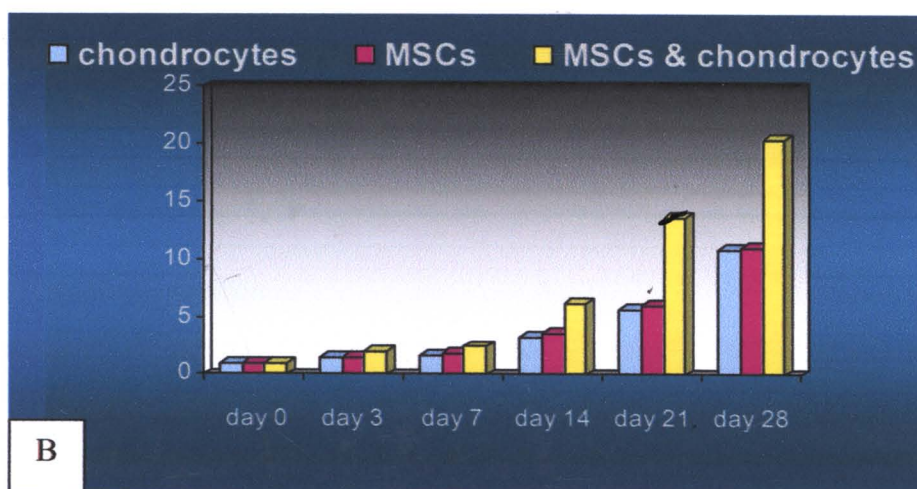
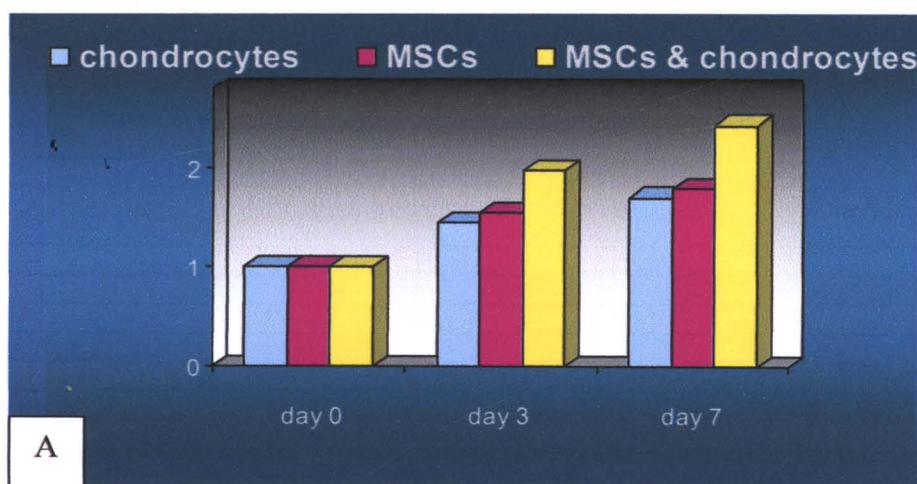


ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงเซลล์ chondrocyte ร่วมกับ MSCs พบว่า MSCs สามารถกระตุ้นการแบ่งตัว (proliferation) ของ chondrocyte ขณะเดียวกัน chondrocyte สามารถกระตุ้น differentiation ของ MSCs และมีการสร้างโปรตีน (collagen type II, X, aggrecans, SOX 9) เหมือนใน chondrocyte ได้ทำให้ MSCs สามารถใช้ทดแทนและร่วมกันกระตุ้นการสร้างกระดูกอ่อนใหม่ในผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของกระดูกอ่อน

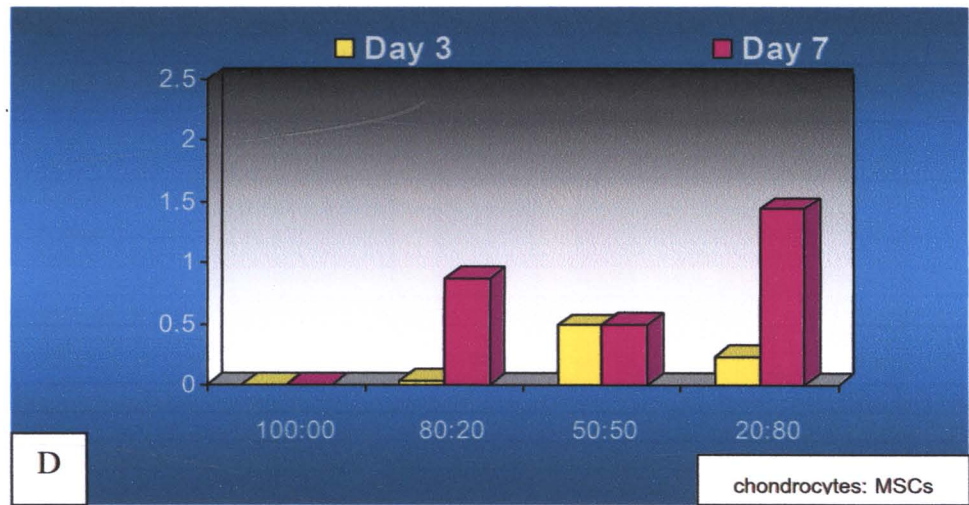
Cell proliferation



* statistics significant ($p < 0.001$, One-way ANOVA)

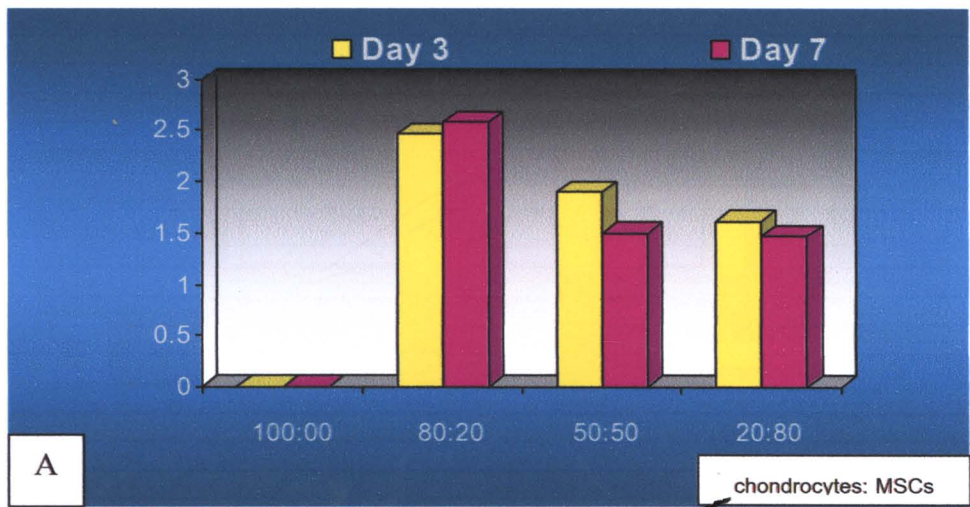
รูปที่ 1 แสดงการแบ่งตัวของเซลล์กระดูกอ่อนและเซลล์ต้นกำเนิดที่เลี้ยงร่วมกันมีจำนวนมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ

Chondrocyte Aggrecan gene expression

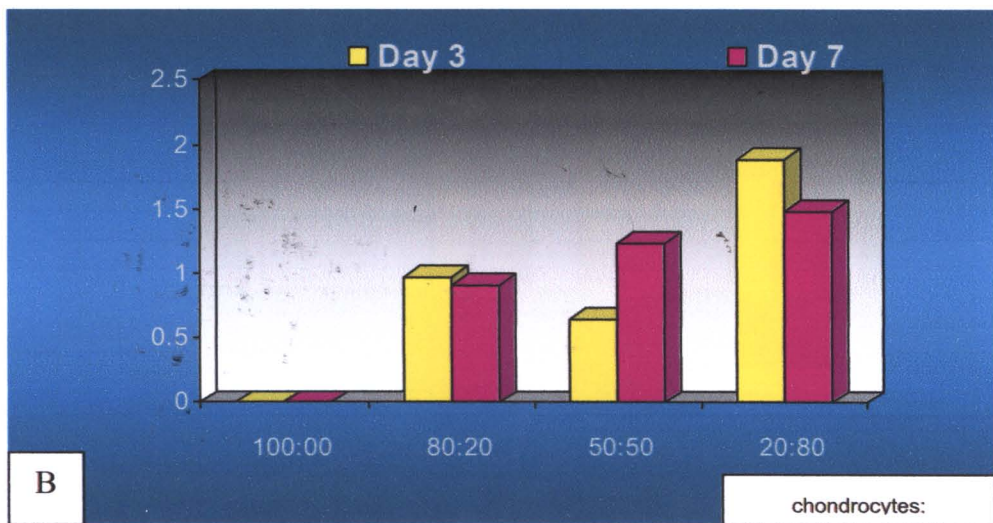


รูปที่ 2 แสดง collagen II, X, SOX-9, Aggrecan gene expression ของ chondrocyte ในภาวะ co-culture , มีจำนวนมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ

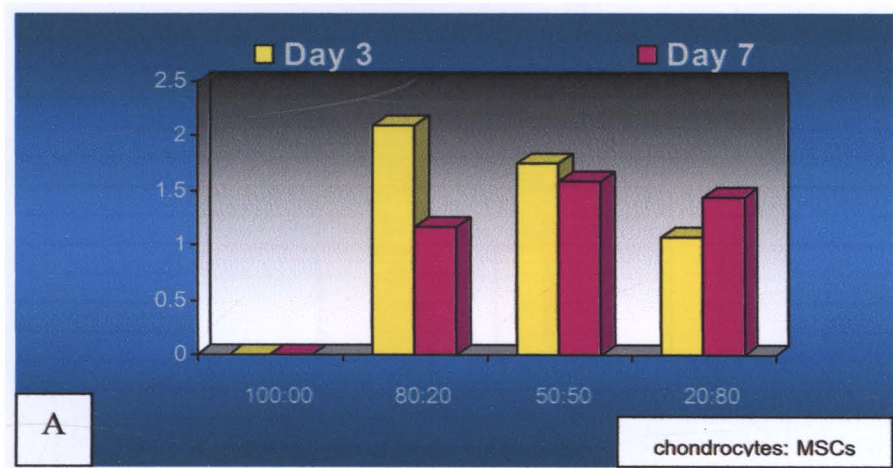
MSCs collagen II gene expression



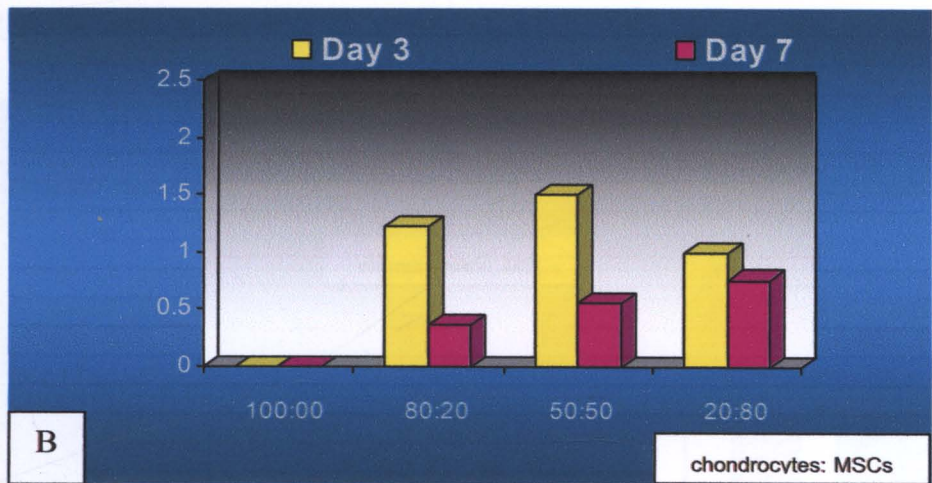
MSCs Collagen X gene expression



Chondrocyte collagen II gene expression



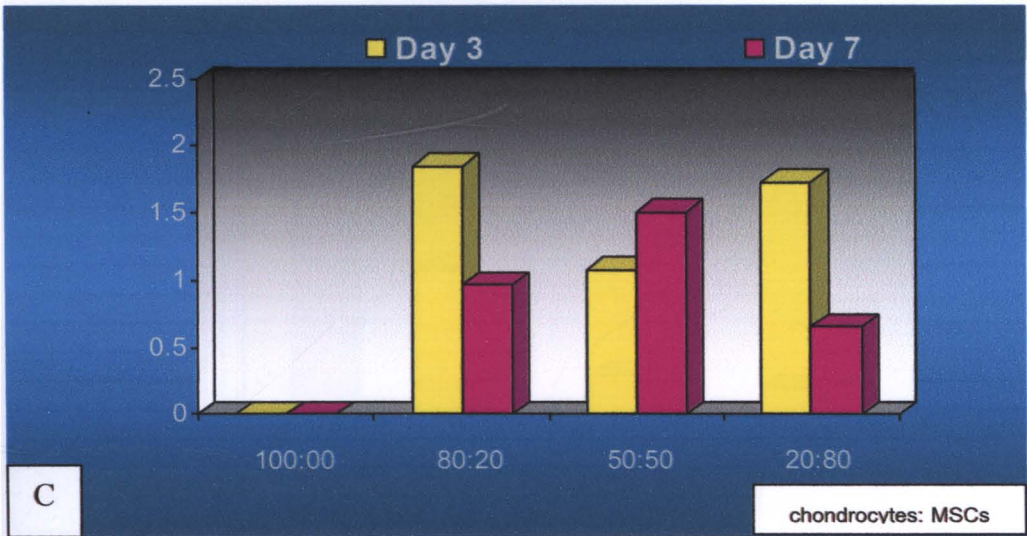
Chondrocyte collagen X gene expression



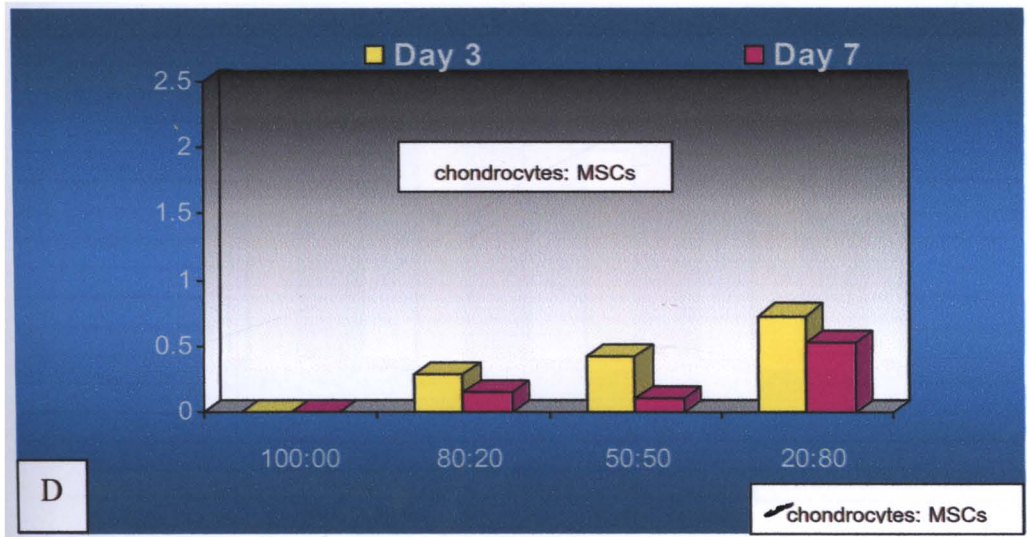
Chondrocyte SOX-9 gene expression



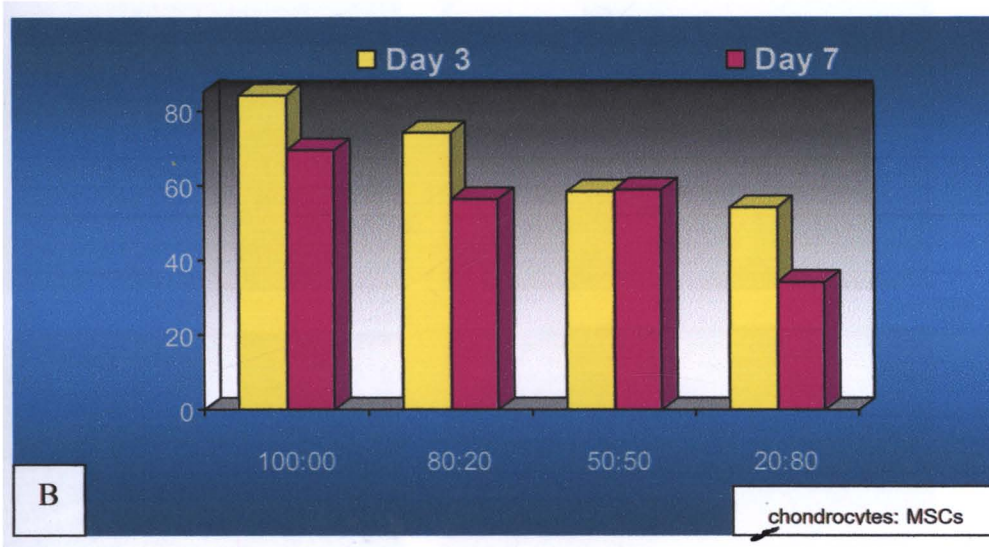
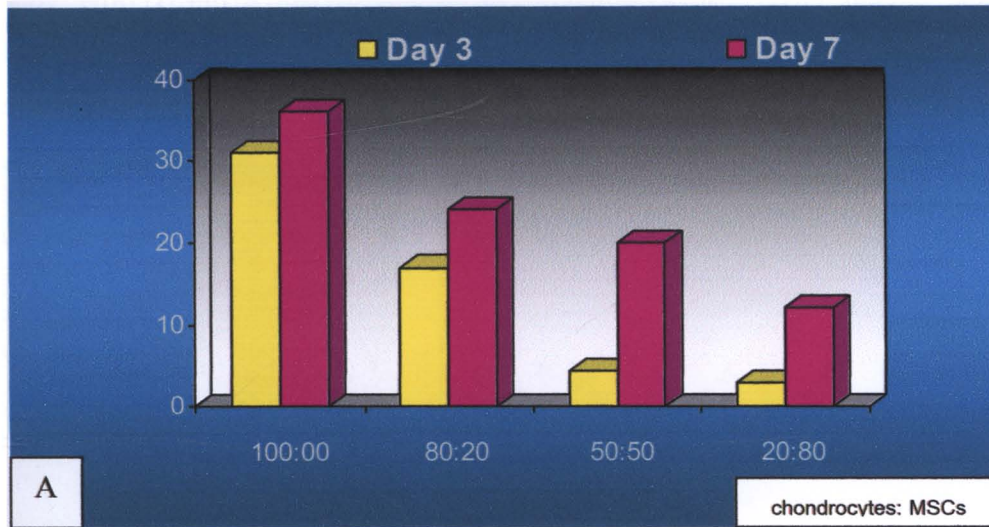
MSCs SOX-9 gene expression



MSCs AGGRECAN gene expression



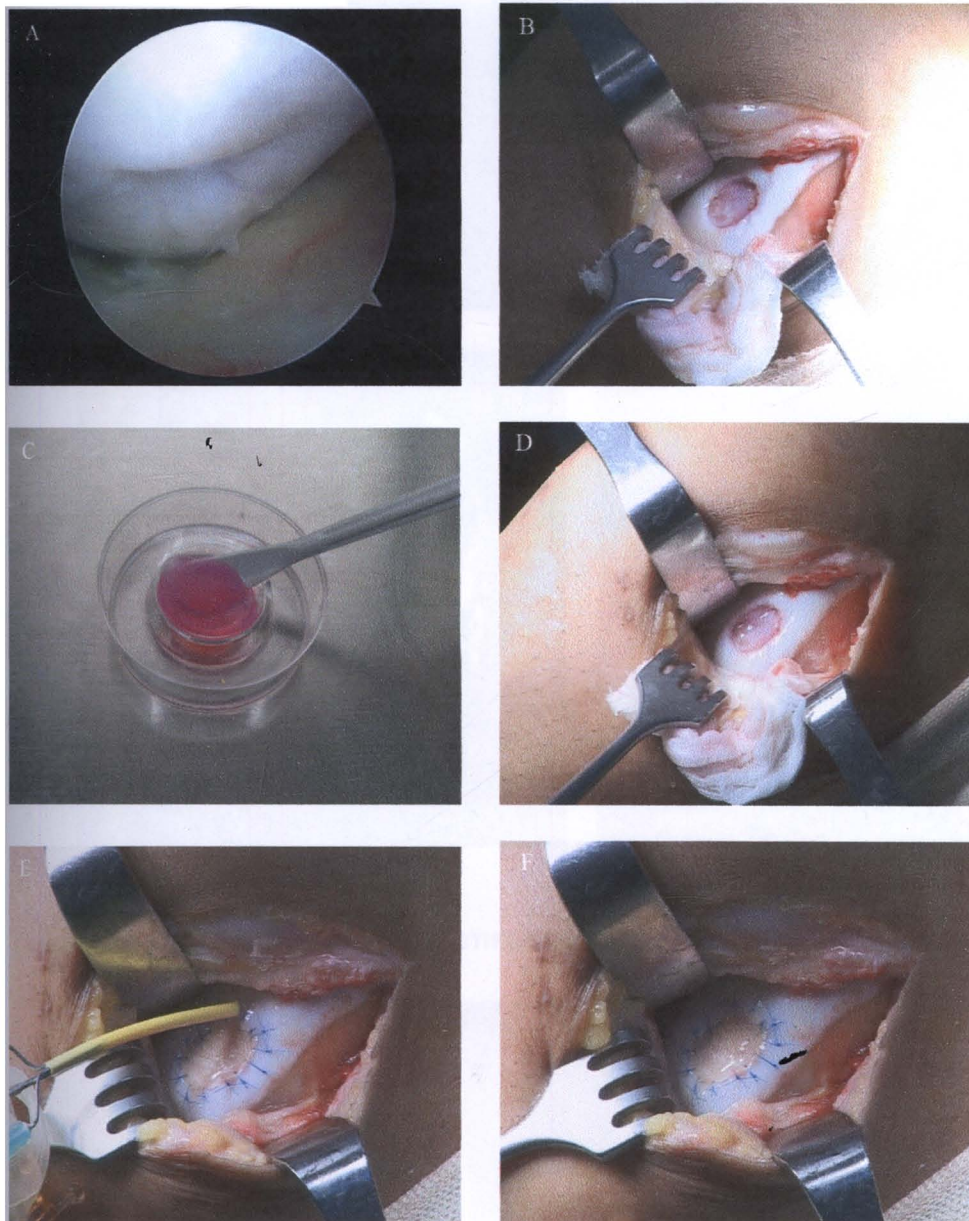
รูปที่ 3 แสดง collagen II, X, SOX-9, AggreCAN gene expression ของ MSC ในภาวะ co-culture มีจำนวนมากกว่า chondrocyte ปกติอย่างมีนัยสำคัญ



รูปที่ 4 แสดง CD90, CD105, ซึ่งเป็น marker ของ MSCs ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในภาวะ co-culture ซึ่งแสดงถึงการมี chondrocyte differentiation ของ MSCs

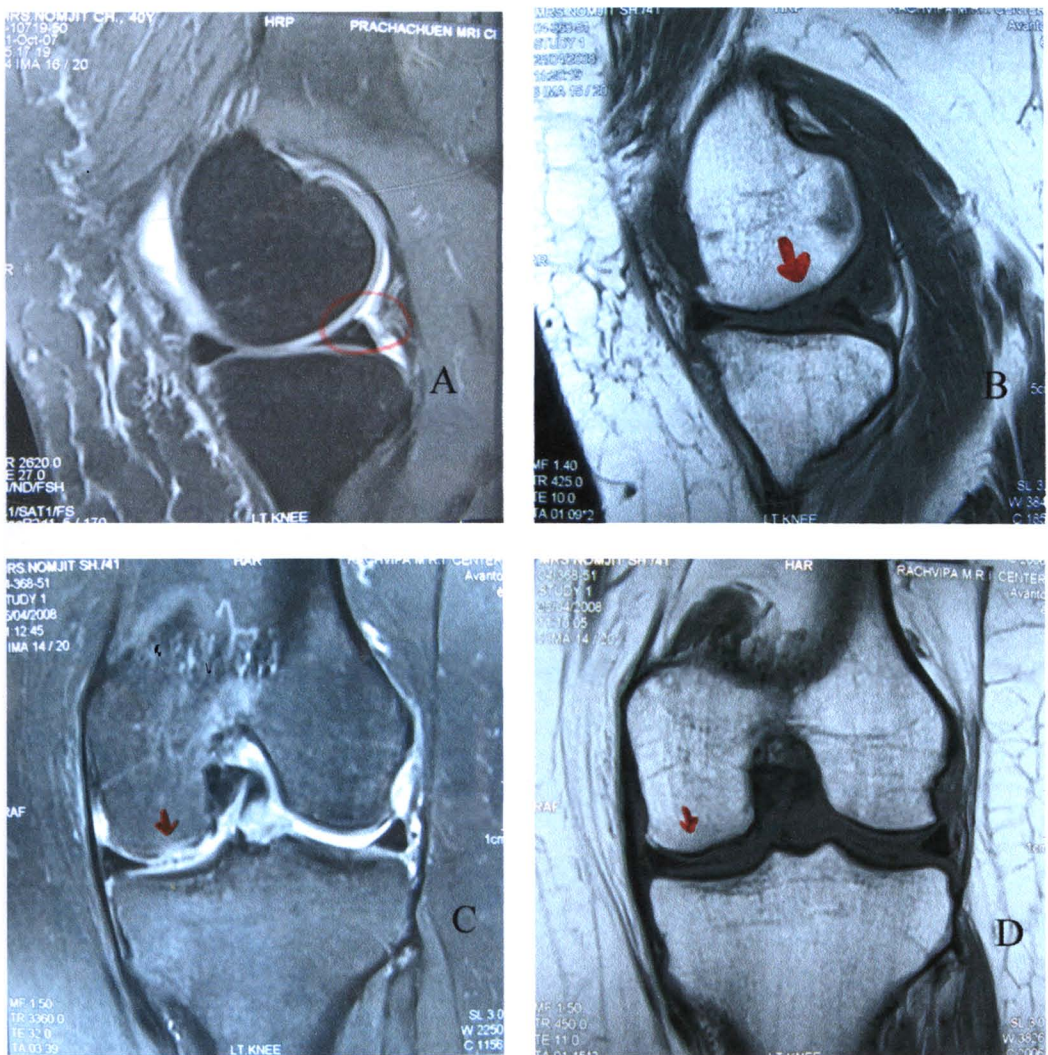
การรักษาผู้ป่วยด้วยการปลูกถ่าย MSCs และ chondrocyte ที่เลี้ยงร่วมกับ MSCs ได้เริ่มทำตั้งแต่ ปี 2550 ผู้ป่วยได้รับการปลูกถ่าย MSCs จำนวน 2 ราย ในรอยโรคกระดูกอ่อนและผู้ป่วยได้รับการปลูกถ่าย chondrocyte ที่เลี้ยงร่วมกับ MSCs จำนวน 20 ราย ไม่พบภาวะแทรกซ้อนภายหลังการผ่าตัดหลังจากติดตามผลการรักษาเป็นเวลา 1 – 3 ปี ทุกรายมีผลการประเมินด้วย KOOS (Knee and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) และ International Knee Documentation Committee (IKDC) ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเทียบกับก่อนการรักษา การติดตามผลการรักษาโดยใช้ MRI พบว่าบริเวณรอยโรคถูกทดแทนด้วยกระดูกอ่อนที่สร้างขึ้นใหม่ ผู้ป่วยบางรายได้มีโอกาสได้ทำ second look

arthroscopy พบการทดแทนรอยโรคกระดูกอ่อนด้วยกระดูกอ่อนใหม่ การทำ needle biopsy พบว่ากระดูกอ่อนใหม่มีลักษณะเป็น hyaline cartilage ใกล้เคียงกับกระดูกอ่อนปกติซึ่งไม่สามารถทำได้กับการรักษาแบบเดิม

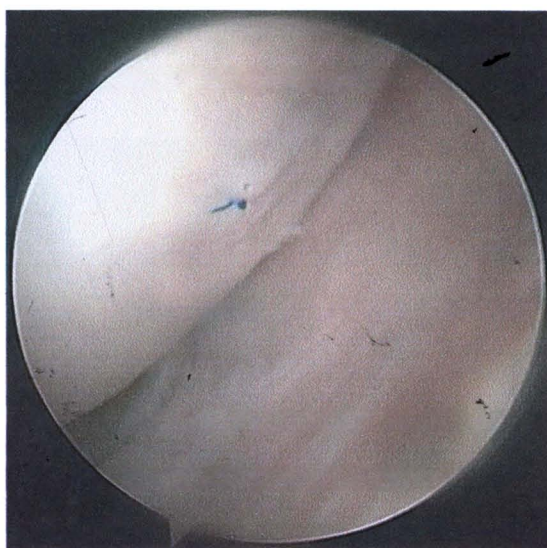


รูปที่ 5 แสดงขั้นตอนการผ่าตัดปลูกถ่าย: รอยโรคของกระดูกอ่อน (A, B), BM-SCs หรือ BM-SCs ที่เลี้ยงร่วมกับเซลล์กระดูกอ่อนใน three-dimensional collagen scaffold (C), ปลูกถ่ายไปยังบริเวณรอยโรค (D), เย็บปิดและใช้fibrin glue ปิดขอบรอยโรค (E, F)

การติดตามผลโดยใช้ MRI พบว่าบริเวณรอยโรคที่ได้รับการผ่าตัดปลูกถ่ายเซลล์กระดูกอ่อนได้รับการทดแทนด้วยเนื้อเยื่อกระดูกอ่อน (cartilage - like repair tissue) (รูปที่ 6)



รูปที่ 6 MRI พบบริเวณรอยโรคได้รับการทดแทนด้วยเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนใหม่

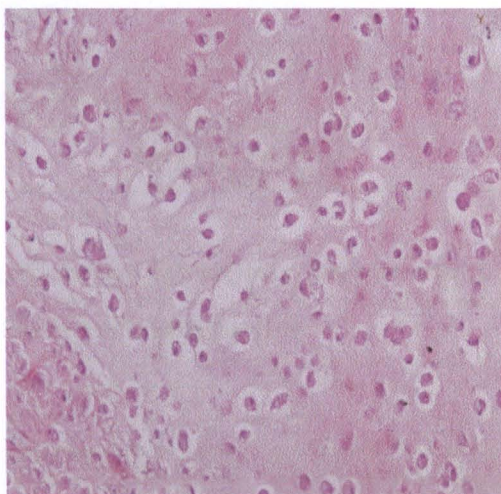


รูปที่ 7 บริเวณรอยโรคได้รับการทดแทนด้วยเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนใหม่จากการทำ second-look arthroscopy

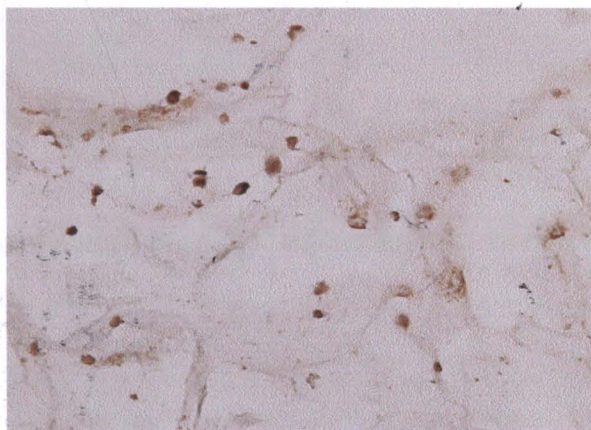
ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์กระดูกอ่อน มีอาการดีขึ้นเทียบกับก่อนผ่าตัดอย่างมีนัยสำคัญ
The International Knee Documentation Committee Score (IKDC Score) และ KOOS (Knee
and Osteoarthritis Outcome Score)

ผลการตรวจเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนก่อนทางพยาธิวิทยาทำการปลูกถ่าย

พบว่าเซลล์กระดูกอ่อนสามารถเจริญเติบโตในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสามมิติ (three-dimensional scaffold) ในห้องปฏิบัติการ จากการย้อม H&E ยังพบว่าเซลล์กระดูกอ่อนสามารถสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และมีการเรียงตัวของกระดูกอ่อนปกติ (extra-cellular matrices) ได้ (รูปที่ 8) นอกจากนั้นเมื่อศึกษา การแบ่งตัวของเซลล์กระดูกอ่อนเพื่อดู cell differentiation ด้วยการย้อมดู S100 protein พบว่าเซลล์ กระดูกอ่อนที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการแสดงผล S100 protein ชัดเจนซึ่งแสดงถึงเซลล์กระดูกอ่อนที่ เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมี chondrocyte differentiation ที่ดี (รูปที่ 9)



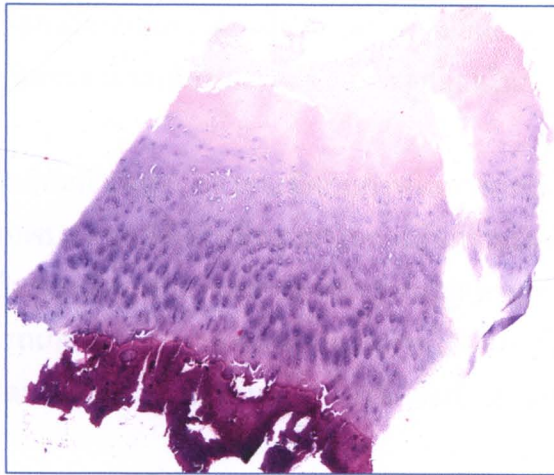
รูปที่ 8 แสดงลักษณะของกระดูกอ่อนที่มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของกระดูกอ่อน (extra - cellular matrices) จากการย้อม H&E



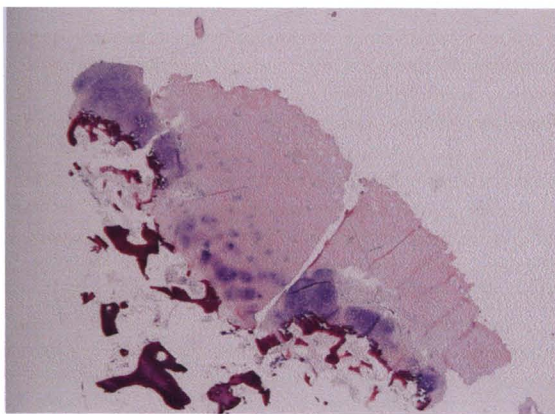
รูปที่ 9 แสดงลักษณะของเซลล์กระดูกอ่อนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสามมิติ (three-dimensional scaffold) จากการย้อม S100 พบติดสีเข้มซึ่งแสดงถึง chondrocyte differentiation

การตรวจเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนทางพยาธิวิทยาที่ได้จากผู้ป่วยภายหลังการปลูกถ่าย

ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์กระดูกอ่อนที่เลี้ยงร่วมกับเซลล์ต้นกำเนิดเมื่อได้รับการผ่าตัดส่องกล้อง เพื่อดูบริเวณที่ได้รับการปลูกถ่ายพบผิวข้อมีลักษณะใกล้เคียงกับผิวข้อปกติ และการตัดชิ้นเนื้อจากบริเวณที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์กระดูกอ่อนเมื่อย้อมด้วยวิธี H&E พบลักษณะของ hyaline cartilage ปกติ (รูปที่ 10) เมื่อนำไปย้อมดู antibody ต่อ collagen II พบ collagen II ในบริเวณผิวข้อที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์กระดูกอ่อน (รูปที่ 11)



รูปที่ 10 แสดงผลของกระดูกอ่อนที่ได้ภายหลังการปลูกถ่ายจากการย้อม H&E พบเนื้อเยื่อกระดูกอ่อนที่สร้างใหม่มีลักษณะใกล้เคียงกับกระดูกอ่อนปกติ



รูปที่ 11 แสดงผลเปรียบเทียบการย้อม antibody ต่อ collagen II ของกระดูกอ่อนที่ได้ภายหลังการปลูกถ่ายเทียบกับการย้อม H&E