ประพจน์ ทันไธสง : ผลของลิเทียมคลอไรด์และ SB216763 ต่อการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของมนุษย์เป็นเซลล์กระดูกอ่อน (EFFECT OF LITHIUM CHLORIDE AND SB216763 ON CHONDROGENIC DIFFERENTIATION OF HUMAN WHARTON'S JELLY DERIVED MESENCYMAL STEM CELLS) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย, 65หน้า

กระดูกอ่อนผิวข้อคือเนื้อเยื่อที่ไม่มีหลอดเลือด ไม่มีท่อน้ำเหลือง และไม่มีระบบประสาท จึงมีการฟื้นฟูที่ต่ำมากเนื่องจากมีข้อจำกัดในการซ่อมแซมตัวเอง เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ (Mesenchymal stem cells, MSCs) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่นำมาใช้ในการรักษาแบบเซลล์บำบัด สารยับยั้งเอนไซม์ไกลโคเจนซินเทรสไคเนส 3 (Glycogen synthase kinase 3 inhibitors, GSK-3 inhibitors) เป็นสารประกอบที่มีศักยภาพในการเหนี่ยวนำให้เกิด Wnt signaling pathway ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดเซลล์กระดูกอ่อนและการสร้างกระดูกอ่อนผู้วิจัยจึงทำการตรวจสอบอิทธิพลของ ลิเทียมคลอไรด์ (LiCl)และ SB216763ร่วมกับ Transforming growth factor - beta 3 (TGF-β3) ต่อการเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์กระดูกอ่อนจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของมนุษย์ (human Wharton's jelly derived mesenchymal stem cells, hWJ-MSCs) โดยนำเซลล์มาเลี้ยงในน้ำยาเหนี่ยวนำเซลล์กระดูกอ่อนภายใต้สภาวะการทดลองแบบพื้นผิวชั้นเดียว (monolayer) และแบบกลุ่มก้อน (pellet) โดยแบ่งกลุ่มการทดลองเป็นดังนี้ คือ 1) กลุ่มน้ำยาเหนี่ยวนำเซลล์กระดูกอ่อน (chondrogenic medium)2) กลุ่มน้ำยาเหนี่ยวนำเซลล์กระดูกอ่อนที่เติมลิเทียมคลอไรด์ (chondrogenic medium + LiCl) และ 3) กลุ่มน้ำยาเหนี่ยวนำเซลล์กระดูกอ่อนที่เติม SB216763 (chondrogenic medium + SB216763)หลังการเหนี่ยวนำในหลอดทดลอง นำเซลล์ที่เพาะเลี้ยงมาตรวจสอบการแสดงออกของยีนและโปรตีน*Sox9*,*ACAN*, *Col2a1*, และ*β-catenin* และการสะสมของไกลโคสมิโนไกลแคน(Glycosaminoglycans, GAGs) ด้วยการย้อมสี Alcain blue จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า SB216763 มีประสิทธิภาพ ในการเหนี่ยวนำ เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่ของมนุษย์ให้เป็นเซลล์กระดูกอ่อนได้ มากกว่าลิเทียมคลอไรด์ซึ่งดูได้จากการเพิ่มขึ้นของยีนและโปรตีนเป้าหมายของกระดูกอ่อนผิวข้อ คือ *Sox9*, *ACAN*, และ*Col2a1*รวมถึงการเพิ่มขึ้นของไกลโคสมิโนไกลแคนด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าการแสดงออกของโปรตีน collagen type II ในกลุ่มน้ำยาเหนี่ยวนำเซลล์กระดูกอ่อน ที่เติม SB216763 เห็นได้ชัดเจนหลังจากตรวจสอบโดย Western blot ทั้งสองกลุ่มการทดลองส่งผลให้เกิดการส่งสัญญานผ่าน Wnt signaling pathway โดยมีผลมาจากการเพิ่มการแสดงออกของ*β-catenin*ทั้งนี้ในทุกกลุ่มการทดลองไม่ส่งผลต่อกระบวนการทำให้เซลล์กระดูกอ่อนมีขนาดใหญ่หรือบวมขึ้น (chondrocyte hypertrophy) ซึ่งเป็นผลมาจากการ

ยับยั้งการแสดงออกของ *Col10a1*และ *Runx2*จากผลการศึกษาครั้งนี้บ่งชี้ให้เห็นว่าลิเทียมคลอไรด์และ SB216763 อาจเป็นตัวเลือกที่เหมาะสมสำหรับการนำมารักษาการฟื้นฟูกระดูกอ่อนผิวข้อในสัตว์ทดลองและมนุษย์ต่อไป

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา2559 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

PRAPOT TANTHAISONG : EFFECT OF LITHIUM CHLORIDE AND SB216763 ON CHONDROGENIC DIFFERENTIATION OF HUMAN WHARTON'S JELLY DERIVED MESENCYMAL STEM CELLS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. RANGSUN PARNPAI, Ph D., 65 PP.

MESENCHYMAL STEM CELLS/WHARTON'S JELLY TISSUE/ CHONDROCYTES/LITHIUM CHLORIDE/SB216763/GSK-3 INHIBITORS

Articular cartilage is avascular, alymphatic, and aneural system with very low regeneration due to its limited capacity for self-repairs. Mesenchymal stem cells (MSCs) are a preferred choice for cell-based therapies. Glycogen synthase kinase 3 (GSK-3) inhibitors are potential compounds to initiate Wnt signaling pathway which involved in chondrogenesis and cartilage development. Here we investigated the influence of Lithium chloride (LiCl) and SB216763synergistically with transforming growth factor - beta 3 (TGF-β3) on chondrogenic differentiation in human mesenchymal stem cells derived from Whaton's jelly tissue (hWJ-MSCs). The hWJ-MSCs were cultivated and induced chondrogenic differentiation under monolayer and pellet conditionsin chondrogenic medium, chondrogenic medium supplemented with LiCl or SB216763. After *in vitro* differentiation, cultures cells were then examined for the expression of*Sox9*, *ACAN*, *Col2a1*, and *β-catenin* markers. Glycosaminoglycans (GAGs) accumulation was also examined by Alcain blue staining. The results indicated that SB216763 was more effective inducing chondrogenic differentiation than LiCl as evidenced by their higher up-regulate of the cartilage-specific markers including *Sox9*, *ACAN*, *Col2a1* as well as GAGs accumulation.Western blot

analysisindicated thatthe collagen type II expression was also strongly observed in alls grown in the chondrogenic medium + SB216763. Both treatments appeared to mediate the Wnt signaling pathway by up-regulation of*β-catenin* gene. Further analysis showed that all treatments suppressed the progression of chondrocytes hypertrophy markers as seen by the decreasedexpressions of *Col10a1* and *Runx2*. These results indicated that LiCl and SB216763 are choice candidates for further *in vivo* therapeutic trials and would be of great importance for cartilage regeneration in animals and human.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี