

ญาณพัฒนา เปลี่ยนทุกข: การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ในการควบคุมการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันระหว่างโปรตีนที่หลั่งออกมาจากระยะการเพาะเลี้ยงต้นและระยะการเพาะเลี้ยงปลายของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้จากสายสะดือผ่านปัจจัยควบคุมกระบวนการทรานสคริปชัน NF-KB บนเซลล์เม็ดเลือดขาวโมโนไซต์ THP-1 (COMPARISON OF IMMUNOMODULATORY ACTIVITY BETWEEN EARLY AND LATE PASSAGES OF UCMSCS-DERIVED SECRETOME VIA REGULATION OF THE NF-KB TRANSCRIPTION FACTOR ON THP-1 MONOCYTIC CELLS) อาจารย์ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ ดร.ปริญญา น้อยสา, 58 หน้า.

คำสำคัญ: สารคัดหลั่งจากเซลล์ต้นกำเนิด/NF-KB/ตัวกำจัดอนุมูลอิสระ/ตัวลดประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันและการดึงดูดของเซลล์

ปัจจุบันสภาวะการอักเสบเป็นปัญหาสุขภาพหลักที่พบในมนุษย์โดยเฉพาะสภาวะการอักเสบเรื้อรัง ซึ่งเป็นความผิดปกติที่เกิดจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันชนิดไม่จำเพาะสามารถนำไปสู่โรคร้ายแรง เช่น โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือดแดงแข็ง และโรคข้อกระดูกอ่อนเสื่อม เป็นต้น ในปัจจุบันมีงานวิจัยมากมายกล่าวถึงสารคัดหลั่งจากเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่ได้จากสายสะดือ (UCMSCs – derived secretome) มีฤทธิ์ต่อต้านการอักเสบได้หลากหลายระบบในเซลล์ที่ได้รับ แต่ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานที่สารคัดหลั่งจากเซลล์ต้นกำเนิดที่เก็บได้จากเซลล์ต้นกำเนิดที่ระยะการเพาะเลี้ยงใดมีประสิทธิภาพมากที่สุด ดังนั้นงานวิจัยนี้จะดำเนินการโดยการศึกษาฤทธิ์ในการต้านการอักเสบอย่างเปรียบเทียบระหว่างสารคัดหลั่งจากเซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากเซลล์ต้นกำเนิดที่ระยะการเพาะเลี้ยงต้น (P. Early-secretome) และระยะการเพาะเลี้ยงปลาย (P. Late-secretome) ผ่านการทดสอบบนเซลล์เม็ดเลือดขาวโมโนไซต์ THP-1 และใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) ในการจำลองการเกิดสภาวะการอักเสบ โดยหลังจากทำการทดสอบและเทียบผลกับสภาวะการอักเสบด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าที่ความเข้มข้น 12.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ของ P. Early-secretome มีประสิทธิภาพในการป้องกันเซลล์ตายเนื่องจากสามารถลดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและต้านการอักเสบได้อย่างมีนัยสำคัญในผลของ qPCR และ ELISA ขณะที่ความเข้มข้นเดียวกันของ P. Late-secretome ไม่สามารถป้องกันเซลล์ตาย และกระตุ้นยีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและต้านการอักเสบให้สูงขึ้น โดยเฉพาะยีน NF-KB ที่เป็นปัจจัยควบคุมหลักของการทรานสคริปชันในการตอบสนองต่อการอักเสบ แม้ว่าผลการทดสอบของ DCFH-DA ยืนยันว่าสารคัดหลั่งจากเซลล์ต้นกำเนิดจากทั้ง 2 แหล่งมีฤทธิ์เป็นสารกำจัดอนุมูลอิสระก็ตาม ซึ่งผลลัพธ์เหล่านี้้อธิบายได้จากผลของไซโตไคน์อาร์เรย์

พบว่า P. Early-secretome จากการเพาะเลี้ยงต้นมีการแสดงออกของลิแกนด์ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบที่ระดับน้อยกว่า P. Late-secretome อย่างมาก จากผลเหล่านี้มีผลต่อการตอบสนองการอักเสบในบริบทที่แตกต่างกันของ secretome จากทั้ง 2 แหล่งนี้ สอดคล้องได้กับผลการจำลองการเคลื่อนที่แบบมีสารเหนียวนำ ที่พบว่า P. Early-secretome สามารถยับยั้งการเคลื่อนที่ผ่านเมมเบรนของเซลล์ THP-1 ได้ดีที่สุด การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า P. Early-secretome มีฤทธิ์ในการเป็นตัวลดประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่ การยับยั้งการอักเสบและลดการดึงดูดของเซลล์ THP-1 ขณะเกิดสภาวะการอักเสบ บ่งชี้ว่ามันมีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการนำไปต่อยอดในงานด้านการอักเสบไม่ว่าจะเป็นการรักษาด้วยการฉีดเข้าเส้นเลือด, อาหารเสริม, หรือเป็นโมเดลในการศึกษาฤทธิ์ด้านการอักเสบในอนาคต



สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่อนักศึกษา ญาณ พัดมณี  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา P.

YANAPHAT PLEUNGTUK: COMPARISON OF IMMUNOMODULATORY ACTIVITY BETWEEN EARLY AND LATE PASSAGES OF UCMSCS-DERIVED SECRETOME VIA REGULATION OF THE NF-KB TRANSCRIPTION FACTOR ON THP-1 MONOCYTIC CELLS. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. PARINYA NOISA, Ph.D., 58 PP.

Keyword: Secretome/NF-KB/ROS scavenger/Immunosuppressor and Recruitment

Inflammatory issues, especially chronic inflammation, are a global problem to human health as it is associated with innate immune disorders in various serious diseases such as diabetes, atherosclerosis, osteoarthritis, etc. Interestingly, UCMSCs – derived secretome has been widely reported as an anti-inflammatory potential on various mechanisms, yet still has not been studied whether the gained secretome is the most effective at which cell passages of culture. This study was performed to compare anti-inflamed capacities between secretome derived from UCMSCs at Early passages (P. Early-secretome) and Late passages (P. Late-secretome) and used to THP -1 monocytic cells and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in constructing a model during inflammation. Here, we found that at 12.5 µg/ml of the P. Early-secretome had a significantly higher percentage of cell viability than H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alone condition, and also significantly downregulated inflammatory genes compared to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> alone condition and unchanged on anti-inflammatory genes when compared with ctrl on lqPCR and ELISA assays. Meanwhile, the same condition at 12.5 µg/ml of P. Late-secretome had the opposite effects which did not protect against cell death but upregulated genes involving inflammatory and anti-inflammatory, particularly central transcription factors of inflammatory responses like NF-KB gene, even both UCMSCs-derived secretome could act as ROS scavenger in the experiment of the DCFH-DA assay. Since, the cytokines contained within the secretome had different contexts in the inflammatory response, notably the human cytokine arrays illustrated that the P. Early-secretome expressed cytokines involving inflammatory ligands was considerably lower than the P. Late-secretome. These results were consistent with the chemotaxis assay, which found that the P. Early-secretome inhibited the number of transmigrated cells the best. In conclusion, this study demonstrated the P. Early-secretome had efficiencies in immunosuppressor including inflammatory inhibition and attenuated recruitment on THP-1 cells during inflammation, indicating it may be the most effective for

anti-inflammatory applications such as injectable medications, drugs, or a novel strategy of anti-inflamed models.



School of Biotechnology  
Academic Year 2022

Student's Signature Yanaphat  
Advisor's Signature P. [Signature]