ศิริลักษณ์ สำเร็จงาน : การเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกของมนุษย์เป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ และการปลูกถ่ายให้หนูแรทที่มีภาวะไขสันหลังฉีกขาด (INDUCTION OF HUMAN UMBILICAL CORD WHARTON'S JELLY DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS INTO NEUROSPHERES AND TRANSPLANTATION FOR SPINAL CORD INJURY OF RAT MODEL) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. รังสรรค์ พาลพ่าย, 83 หน้า.

คำสำคัญ: เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกของมนุษย์/นิวโรสเฟียร์/การปลูกถ่าย/การฟื้นฟู/ภาวะไขสันหลังฉีกขาด

การบาดเจ็บไขสันหลังส่งผลให้เกิดการอักเสบและการตายของเซลล์ประสาทที่นำไปสู่การสูญเสียความสามารถในการเคลื่อนไหว เนื่องจากการรักษาภาวะการบาดเจ็บไขสันหลังที่ยังมีข้อจำกัด การรักษาด้วยเทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิดบำบัดเป็นอีกทางออกหนึ่งในการรักษาโรคที่เกี่ยวกับระบบประสาทและการบาดเจ็บไขสันหลัง เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกของมนุษย์ก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับใช้ในเทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิดบำบัด เนื่องจากง่ายที่จะขอรับบริจาคและไม่ต่อต้านระบบภูมิคุ้มกันหลังจากใช้ในการปลูกถ่าย โดยการทดลองครั้งนี้มีจุดประสงค์ที่จะนำเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่ได้มาเหนี่ยวนำให้เป็นเซลล์ประสาทต้นกำเนิด/เซลล์ประสาทโปรเจนิเตอร์ ในลักษณะเซลล์นิวโรสเฟียร์ด้วยน้ำยาเหนี่ยวนำที่มีสารชีวโมเลกุลขนาดเล็กคือ P7C3-A20 และ Isx9 แล้วปลูกถ่ายในหนูแรทที่ถูกทำให้เกิดการบาดเจ็บของไขสันหลัง เซลล์นิวโรสเฟียร์ที่ได้ถูกนำไปตรวจสอบโปรตีนที่จำเพาะต่อเซลล์นิวโรสเฟียร์ด้วยการย้อมสีฟลูออเรสเซนต์ การแยกโปรตีนในเจลและตรวจสอบการแสดงออกของยีน ผลการตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนและยีนพบว่าเซลล์นิวโรสเฟียร์ของกลุ่มที่เพิ่มสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก Isx9 ที่ความเข้มข้น 10 μM ลงในน้ำยาเหนี่ยวนำเป็นระยะเวลา 7 วันได้แสดงตัวบ่งชี้ที่จำเพาะและการแสดงออกของยีนที่จำเพาะคือ nestin และ β-tubulin 3 สำหรับเซลล์ประสาทต้นกำเนิด/เซลล์ประสาทโปรเจนิเตอร์ นอกจากนี้ แสดงตัวบ่งชี้ที่จำเพาะและการแสดงออกของยีนที่จำเพาะ β-catenin และ NEUROD1 จากการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์ประสาทต้นกำเนิดผ่านการสื่อสัญญาณภายในเซลล์ที่เรียกว่า Wnt3A signaling pathway จากนั้นเซลล์นิวโรสเฟียร์กลุ่ม 10 μM Isx9 ที่ถูกเหนี่ยวนำเป็นระยะเวลา 7 วัน ถูกนำไปนำไปใช้ในการปลูกถ่ายในหนูแรทที่ถูกทำให้เกิดการบาดเจ็บของไขสันหลังแล้วเป็นระยะเวลา 9 วัน หลังจากปลูกถ่ายเซลล์ไปแล้ว 8 สัปดาห์หนูที่ถูกปลูกถ่ายด้วยเซลล์นิวโรสเฟียร์สามารถเคลื่อนที่ได้ใกล้เคียงกับปกติมากที่สุดจากผลทดสอบการทำงานของเนื้อเยื่อไขสันหลัง ส่วนผลทางเนื้อเยื่อวิทยาพบว่ามีการอยู่รอดของเซลล์ที่ใช้ปลูกถ่ายเข้าไปในเนื้อเยื่อไขสันหลังหนูแรททั้งกลุ่มเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์และกลุ่มเซลล์นิวโรสเฟียร์พร้อมทั้งแสดงออกถึงโปรตีนของเซลล์

ประสาท (β-tubulin 3) และมีการทำงานของสารสื่อประสาท (ChAT) นอกจากนี้กลุ่มที่ปลูกถ่ายด้วยเซลล์นิวโรสเฟียร์ยังพบปริมาตรพื้นที่ของเนื้อเยื่อที่บาดเจ็บบริเวณเนื้อเยื่อไขสันหลังที่น้อยที่สุดที่แสดงถึงการมีกระบวนการฟื้นฟูของเนื้อเยื่อไขสันหลังเกิดขึ้น

การทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่า เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นไคม์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อวาร์ตันเจลลี่สายรกของมนุษย์สามารถถูกเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์นิวโรสเฟียร์ในน้ำยาที่ประกอบด้วย 10 μM Isx9 ผ่าน Wnt3A signaling pathway เป็นระยะเวลา 7 วัน และหลังจากปลูกถ่ายเซลล์นิวโรสเฟียร์เข้าสู่หนูแรทที่ทำให้เกิดภาวะไขสันหลังฉีกขาดเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเซลล์นิวโรสเฟียร์ที่ได้มีความสามารถที่จะเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ประสาทพร้อมกับการทำงานของสารสื่อประสาทได้ซึ่งสามารถฟื้นฟูและรักษาอาการบาดเจ็บไขสันหลังในหนูแรทได้ดีกว่าอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ปลูกถ่าย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2565

ลายมือชื่อนักศึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

SIRILAK SOMREDNGAN : INDUCTION OF HUMAN UMBILICAL CORD WHARTON'S JELLY DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS INTO NEUROSPHERES AND TRANSPLANTATION FOR SPINAL CORD INJURY OF RAT MODEL. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. RANGSUN PARNPAI, Ph.D., 83 PP.

Keyword: HUMAN UMBILICAL CORD WHARTON'S JELLY-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS/NEUROSPHERE/TRANSPLANTATION/RECOVERY/SPINAL CORD INJURY

Spinal cord injury (SCI) causes inflammation and neuron degeneration, leading to loss of functional movement. Since the availability of SCI treatments are still limited, stem cell therapy is an alternative clinical treatment for SCI and neurodegeneration disorders. Human umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells (hWJ-MSCs) are excellent options for cell therapy, since they are simple to deliver and have not shown any negative impacts on allogeneic transplantation. This study aims to induce hWJ-MSCs into neural stem/progenitor cells in sphere formation (neurosphere) by using neurogenesis-enhancing small molecules (P7C3 and Isx9) and transplant to recover SCI in rat model. Neurospheres induction were characterized by immunocytochemistry (ICC), western blot, and gene expression analysis before transplantation. The result of protein and gene expression showed that neurospheres, induced by 10 μM Isx9 for 7 days, produced neural stem/progenitor cell markers such as nestin and β-tubulin 3. Additionally, neural stem cells differentiation through Wnt3A signaling pathway regulation marker (β-catenin and NEUROD1) were also expressed. The neurospheres from the 7-day Isx9 group were selected to be transplanted into 9-day SCI rats. Eight weeks after transplantation, rats transplanted with the neurospheres could move normally, as shown by behavioral tests. Histological results showed that MSCs and neurospheres were detected in the injured spinal cord tissue and can produce neurotransmitter activity. The neurosphere transplanted rats showed the lowest cavity size of the SCI tissue resulted from injury recovery mechanism in the spinal cord.

In conclusion, hWJ-MSCs could differentiate into neurospheres using 10 μM Isx9 media through Wnt3A signaling pathway. Eight weeks after transplantation, neurospheres

could be detected and differentiated into neural lineage with neurotransmission function. The SCI rats with neurospheres transplant had better recovery of the SCI tissue and movement than the SCI rats without transplantation of neurospheres.

School of Biotechnology
Academic Year 2022

Student's Signature
Advisor's Signature
Co-advisor's Signature