

บทคัดย่อ

เซลล์ต้นกำเนิดเมสเซนไคนีมอลได้รับการยอมรับว่าสามารถนำมาประยุกต์ใช้รักษาโรคต่างๆ ได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามการรักษาโรคต่างๆ นี้มักพบกับปัญหาเรื่องการมีปริมาณเซลล์ต้นกำเนิดไม่เพียงพอต่อการนำมาใช้ในการรักษาโรค และคุณภาพที่ของเซลล์ซึ่งหากนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเป็นเวลานานเป็นเดือนเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ให้ได้ปริมาณเพียงพอนั้น จะทำให้เซลล์ต้นกำเนิดเสียคุณสมบัติความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดได้ ซึ่งเมื่อนำมาใช้ในการรักษาโรคจะส่งผลให้การรักษาโรคในผู้ป่วยไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะคิดค้นหาเทคโนโลยีใหม่ในการเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดเมสเซนไคนีมอลจากสายสะดือ ให้สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้น และยังคงคุณสมบัติความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้น ในการนี้ได้มีการพัฒนาน้ำยาเลี้ยงเซลล์ชนิดใหม่ที่ยังไม่มีผู้ใดศึกษา คือ embryonic stem cells conditioned medium (ESCM) ผสมรวมกับ epidermal growth factor (EGF) เป็นส่วนประกอบหลักอีกชนิดหนึ่ง และนำมาเลี้ยงเซลล์ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ (ปริมาณออกซิเจน ร้อยละ 5) จากผลการทดลองพบว่าวิธีการนี้สามารถเร่งการเจริญเติบโตของ เซลล์ต้นกำเนิดเมสเซนไคนีมอลจากสายสะดือได้เป็นอย่างดี โดยสามารถกระตุ้นให้เซลล์เพิ่มจำนวนได้สูงถึง 424.88 ± 14.62 เท่าเมื่อเทียบกับจำนวนเริ่มต้น ภายในระยะเวลาเพียง 12 วัน ในขณะที่เดียวกันเซลล์เหล่านี้ยังสามารถรักษาคุณสมบัติของความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดเมสเซนไคนีมอล จากสายสะดือได้อย่างดีทั้งในด้านของรูปร่างเซลล์ การแสดงออกของโปรตีนบนผิวเซลล์ (CD_{29}^+ CD_{44}^+ CD_{90}^+ CD_{34}^- CD_{45}^-) ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ที่จำเพาะ (เซลล์กระดูกแข็ง เซลล์กระดูกอ่อน และเซลล์ไขมัน) และการแสดงออกของยีนที่บ่งชี้ความเป็นเซลล์ต้นกำเนิด การทดลองนี้สรุปได้ว่าการเลี้ยงเซลล์แบบใหม่นี้สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ต้นกำเนิดเมสเซนไคนีมอล จากสายสะดือได้อย่าง

มีประสิทธิภาพที่สูง ในระยะเวลาอันสั้น ซึ่งเหมาะแก่การนำไปประยุกต์ใช้ในทางคลินิกเพื่อการรักษาโรคและเก็บแช่แข็งเป็นธนาคารเซลล์ต้นกำเนิดเพื่อใช้ในระยะเวลาต่อไปได้



Abstract

Mesenchymal stem cells (MSCs) has been accepted as a promising tool for therapeutic purpose. However, insufficient quantity of the cells and changing in stem cell characteristics of the stem cells according to the long term cell culture *in vitro* (more than 30 days) are major obstacles for therapeutic applications of this cell type. These problems lead to ineffective therapeutic outcomes. Therefore, this work focus on development a new effective method for Wharton's jelly mesenchymal stem cells (WJ-MSCs) expansion *in vitro* in a short period of time which is also able to maintain its stem cell characteristics. To this end, we developed a new culture medium composes of embryonic stem cell condition media containing epidermal growth factor as another major component of the media. We used this medium to culture WJ-MSCs under hypoxic condition (5% O₂). The results demonstrated that this new medium could accelerate WJ-MSCs expansion by 424.88 ± 14.62 folds increase in day 12 compared to day 0 of the *in vitro* cultures. The expanded cells also could preserve common characteristics of MSCs including cells morphology, cell surface marker expressions (CD₂₉⁺, CD₄₄⁺, CD₉₀⁺, CD₃₄⁻, CD₄₅⁻), differentiation potential (osteoblasts, chondroblasts, adipocytes), and stemness marker expressions. Altogether, this new method can serve as a new high effective method for WJ-MSCs expansion *in vitro* in a short period of time which suitable for clinical applications and stem cell bank for long term use of the cells.