

Abstract

Project Code: MRG5980016

Project Title: Stem cell-based therapy for diabetes mellitus: establishment of genetic manipulating protocol for production of dental stem cells-derived insulin-producing cells (IPCs).

Investigator: Chenphop Sawangmake (DVM, MSs, PhD)

E-mail Address: chenphop@gmail.com, chenphop.s@chula.ac.th

Project Period: 2 years

Abstract:

Diabetes is an intractable disease causing hyperglycemia and serious complications. Due to burdens regarding therapeutic efficiency and adverse events, stem cell-based regenerative therapy has been proposed for treating diabetes especially for normoglycemic control in type I diabetes. Various cell resources and induction protocols have been studied. However, the information regarding pancreatic differentiation by human dental pulp stem cells (hDPSCs) using genetic manipulation protocol is still lacking.

In this study, roles of crucial pancreatic-driven gene, *pancreatic and duodenal homeobox (PDX)-1*, on pancreatic differentiation potential of hDPSCs were determined *in vitro*. The results illustrated the beneficial effects of *PDX-1* overexpression by lentiviral transfection on micro-environmental manipulating-based pancreatic induction protocol. Pancreatic endoderm induction along with pancreatic maturation of *PDX-1*-expressing hDPSCs resulted in high number of large-size (> 100 µm) three-dimension (3-D) islet-like colony formation. These islet-like colonies illustrated mRNA expression regarding early pancreatic (*hNGN-3* and *hNKX-6.1*), late pancreatic (*hMAF-A*, *hINSULIN*, and *hGLUT-2*), pancreatic-related (*hGLP-1R*) markers along with Notch target genes (*hHES-1* and *hHEY-1*). There was trend of *hGLUCAGON* downregulation. Insulin protein but not pro-insulin expression was detected by immunocytochemistry staining which suggesting pancreatic beta-cell commitment.

Taken together, the results demonstrated a feasibility of insulin-producing cells (IPCs) production from hDPSCs using integrating *PDX-1*-related genetic manipulation and micro-environmental manipulation approach.

Keywords: diabetes, insulin-producing cells (IPCs), human dental pulp stem cells (hDPSCs), pancreatic and duodenal homeobox-1 (PDX-1)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5980016

ชื่อโครงการ: แนวทางการรักษาโรคเบาหวานด้วยเซลล์ต้นกำเนิด: การศึกษาวิธีการเหนี่ยวนำพันธุ์กรรมสำหรับการสร้างเซลล์สังเคราะห์อินซูลินจากเซลล์ต้นกำเนิดเนื้อเยื่อตับ

ผู้วิจัย: อ.น.สพ.ดร.เจนภพ สว่างเมฆ

อีเมล: chenphop@gmail.com, chenphop.s@chula.ac.th

ระยะเวลาการทำวิจัย: 2 ปี

บทคัดย่อ:

เบาหวานเป็นความผิดปกติเรื้อรังที่ส่งผลให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูงและภาวะแทรกซ้อนที่มีความรุนแรง เนื่องจากปัญหาบางประการในประสิทธิภาพและผลข้างเคียงของการรักษาเบาหวาน จึงส่งผลให้เกิดการวิจัยเพื่อพัฒนาวิธีการรักษาเบาหวานชนิดที่ 1 ด้วยเซลล์ต้นกำเนิด โดยมีการพัฒนาวิธีการและที่มาของเซลล์อย่างหลากหลาย อย่างไรก็ตามข้อมูลการพัฒนาวิธีการรักษาเบาหวานจากการใช้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นโคร์จากเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟันนั้นยังไม่ชัดเจน

ในการศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาผลของยีน *pancreatic and duodenal homeobox (PDX)-1* ต่อการเปลี่ยนแปลงสู่เซลล์ในกลุ่มเซลล์ตับอ่อนของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นโคร์จากเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟันในห้องทดลอง ผลการศึกษาพบว่าการเหนี่ยวนำการแสดงออกของยีน *PDX-1* โดย *lentivirus* ให้ผลดีต่อการเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ด้วยวิธีการปรับสภาวะแวดล้อมของเซลล์ โดยพบว่าเซลล์ที่มีการแสดงออกของ *PDX-1* เมื่อเข้าสู่การเหนี่ยวนำจะให้ขนาดโคโลนีของเซลล์สังเคราะห์อินซูลินที่มีขนาดใหญ่ (มากกว่า 100 ไมครอน) และมีลักษณะเป็นสามมิติที่คล้ายไอเล็ทของตับอ่อน มีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของตับอ่อนช่วงต้น (*hNGN-3* และ *hNKX-6.1*) ช่วงปลาย (*hMAF-A*, *hINSULIN*, และ *hGLUT-2*) ยีนที่เกี่ยวข้องกับตับอ่อน (*hGLP-1R*) ยีนเป้าหมายของ Notch signaling (*hHES-1* และ *hHEY-1*) และมีการลดลงของยีน *hGLUCAGON* นอกจากนี้ยังพบการแสดงออกของโปรตีนอินซูลิน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการพัฒนาเข้าสู่เซลล์สังเคราะห์อินซูลิน

จากผลการศึกษาสรุปได้ว่าการเหนี่ยวนำด้วยการผสมผสานการแสดงออกของยีน *PDX-1* ร่วมกับการปรับเปลี่ยนสภาวะแวดล้อม สามารถเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงสู่เซลล์สังเคราะห์อินซูลินโดยเซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นโคร์จากเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟันได้

คำสำคัญ: เบาหวาน เซลล์ต้นกำเนิดมีเซ็นโคร์จากเนื้อเยื่อโพรงประสาทฟัน ยีน *PDX-1*