

บทคัดย่อ

เมลาโทนิનจัดได้ว่าเป็นฮอร์โมนชนิดหนึ่งที่มีผลทางสรีรวิทยาที่สำคัญต่อร่างกายในหลายประการ ในปัจจุบันได้มีการศึกษาจำนวนมากกล่าวถึงผลของเมลาโทนินในการลดการบาดเจ็บของเนื้อเยื่อผ่านกลไกของการยับยั้งการเกิดภาวะอนุมูลอิสระและกระตุ้นการสร้างไซโตไคน์ รวมทั้งผลของเมลาโทนินซึ่งอาจจะเป็นกุญแจสำคัญในการส่งเสริมให้เกิดการสร้างเซลล์ประสาทใหม่ อีกด้วย จากการศึกษาพบว่าเมลาโทนินมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ (proliferation) ในบริเวณของ Dentate gyrus ในหนูแร็กตลอด และมีผลทั้งต่อการเพิ่มจำนวนและการเจริญพัฒนา (differentiation) ของเซลล์ต้นกำเนิดประสาท ตลอดจนได้มีการศึกษาถึงผลของเมลาโทนินต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ต้นกำเนิดประสาทจาก Subventricular zone (SVZ) การศึกษาเหล่านี้แสดงถึงผลของเมลาโทนินที่มีต่อเซลล์ต้นกำเนิดประสาทโดยผ่านตัวรับเมลาโทนิน

ถึงแม้ว่ากลไกในการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดประสาทยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด และยังไม่มีการศึกษาใดกล่าวถึงผลของเมลาโทนินที่มีต่อยีนที่ควบคุมความสามารถในการ สร้างเซลล์ในลักษณะทดแทนตัวเอง (Self-renewal) ของเซลล์ต้นกำเนิด ในช่วงครึ่งทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการศึกษาทางด้านเวชศาสตร์ฟื้นฟูภาวะเสื่อม (Regenerative medicine) ที่แสดงให้เห็นถึงการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดในการรักษาและฟื้นฟูโครงสร้างรวมทั้งหน้าที่ของเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่ได้รับการบาดเจ็บ จากหลักฐานเหล่านี้เป็นที่ยอมรับทำให้เกิดกลยุทธ์ต่างๆ ในการที่จะเพิ่มจำนวนของเซลล์ตั้งต้น (Progenitor cells) เพื่อที่จะให้ได้ประโยชน์สูงสุดจากการรักษาโดยใช้วิธีเซลล์บำบัด (Cell therapy) เซลล์ต้นกำเนิดประสาทถือได้ว่ามีศักยภาพในการนำมาใช้ในการรักษาด้วยวิธีเซลล์บำบัดสำหรับโรคและกลุ่มอาการที่เกิดจากสภาวะเสื่อมของระบบประสาท รวมทั้งการบาดเจ็บของไขสันหลังได้ ข้อจำกัดของเซลล์ที่ได้จากตัวอ่อนหรือจากสมองของตัวเต็มวัยนั้นคือจำนวนของเซลล์ที่ได้จากการสกัดแยกนั้นมีปริมาณน้อยรวมทั้งการเพาะเลี้ยงเพื่อให้เกิดการเพิ่มจำนวนเซลล์นั้นทำได้ยากและมีความล่าช้า ดังนั้นการเพิ่มปริมาณของเซลล์ต้นกำเนิดประสาทที่จะนำมาใช้ในการรักษาหรือนำมาใช้ในการวิจัยนั้นจึงมีความสำคัญเป็นอย่างมาก การศึกษาครั้งนี้จึงได้ใช้เซลล์ต้นกำเนิดพลูริโพเทนต์ NTD/D1 ซึ่งเป็นเซลล์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ผลการศึกษาพบว่า เมลาโทนินมีผลทำให้เซลล์มีอัตราการเกิด Proliferation ที่สูงขึ้นมากกว่าเซลล์ที่ไม่ได้รับเมลาโทนิน ในช่วง 72 ชั่วโมงแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และแปรผันตามความเข้มข้นของเมลาโทนินที่ใช้ ตั้งแต่ช่วง 0.01-10 ไมโครโมลาร์ เมลาโทนินมีผลทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณของ MTNR1A รวมทั้งลดระดับของโปรตีนที่สำคัญที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นกับสัญญาณ Notch ทั้ง Hes, Hay1, Hay2 และ RBPJ โดยการยับยั้งสัญญาณ Notch นี้ส่งผลให้เกิดการ Differentiation ของเซลล์เมื่อถูกเหนี่ยวนำด้วย Retinoic acid โดยเมลาโทนินมีผลให้อัตราของการ Differentiate ของ NT2/D1 เซลล์นั้นเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ต้นกำเนิดประสาทก้ำจุน (Glial progenitor) มากกว่าเป็น เซลล์ต้นกำเนิดประสาท (Neural progenitor) เมื่อนำเมลาโทนินฉีดเข้าในในหนูทดลองที่เป็นอัมพาตครึ่งท่อนล่างนั้น ถึงแม้ว่าจะไม่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางระบบประสาทยนต์ แต่ส่งผลให้เกิดการงอกของเส้นประสาทผ่านบาดแผลที่เกิดจากการทำลายไขสันหลัง ผลจากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้นำไปสู่ความเข้าใจอย่างลึกซึ้งเกี่ยวกับกลไกการควบคุมการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดประสาทมนุษย์จากผลของเมลาโทนิน ยิ่งไปกว่านั้นการศึกษาในเซลล์ต้นกำเนิดมนุษย์นั้นจะเป็นย่างก้าวที่สำคัญก้าวหนึ่งที่นำไปประยุกต์ใช้ในการรักษาจริงในอนาคต

คำสำคัญ: เมลาโทนิน, เซลล์ต้นกำเนิด, เซลล์ต้นกำเนิดประสาท, การบาดเจ็บของไขสันหลัง, NT2/D1

Abstract

Melatonin is a hormone regulates different physiological functions, including circadian rhythm, pubertal development and seasonal adaptation. Besides its physiological activities, melatonin is also able to reduce tissue injury by decreasing oxidative damage and stimulate cytokines secretion. Increasing evidences purpose that melatonin might be a promising agent in the context of neurogenesis as well. Melatonin modulated proliferative activity in dentate gyrus of early postnatal rat and also influenced proliferation and differentiation of embryonic neural stem cells. Recently, the evidence has shown that treatment of melatonin can increase proliferation of neural stem cells from subventricular zone (SVZ). This study suggested that melatonin modulates the proliferation of precursor cells via membrane melatonin receptors.

In the last few years several studies in regenerative medicine have shown that administration of stem cells enhance structural and functional recovery of injured organ. On the basis of these results it becomes evident that strategies to increase the number of progenitor cells and the concentration of secreted cytokines within the injured area would significantly improve the beneficial effects of cell therapy. Neural progenitor cells have the promising potential to be used in cell therapy for neurodegenerative disorders such as Parkinson's disease and Alzheimer's disease as well as other neurological disorders including spinal cord injuries. Maintenance and expansion of neural progenitor cells are important factors which necessary to provide sufficient amount of cells for therapeutic approach. The others promising source of neural progenitor cells can be obtained from human pluripotent stem cells (hPSC) by a step-wise differentiation procedure. Unfortunately, the neural progenitor cells derived from hPSC have limited self-renewal capacity and cannot be everlastingly maintain in stemness stage in culture. Together with transferring the neural progenitor cells to therapeutic application, the major obstacle in transplantation study is the extremely low number of survival grafted cells. We evaluated whether melatonin administration would influence the cell growth of the hPSC NT2/D1 cells. For this purpose, the proliferation of cells that received melatonin once was determined over a time-course 72 h. Treating NT2/D1 lines with increasing concentrations of melatonin, ranging from 0.01 to 10 μ M has shown to promote cell proliferation as a dose dependent manner. The melatonin receptor 1A was upregulated especially at 16 days after melatonin administration. The treatment of 1 μ M melatonin decrease proteins of Notch signaling cascade Hes, Hay1 and Hay2. Interestingly, in melatonin treated NT2/D1 was significantly shown decreasing the neural regulated gene PAX6 and also the level of α -III-tubulin. Finally, GFAP gene level was fluctuating expressed along the period of RA treatment. Melatonin seem to initially upregulate the level of GFAP at the beginning week of administration. Administration of melatonin into spinal cord injury model revealed significantly axonal sprouting through the glial scar lesion. The study on human stem cells is a mandatory initial step in the road to produce realistic new alternative therapies. An achievement from this study should pave the path to move into trials closer to patient applications.

Keywords: Melatonin, pluripotent stem cell, neural progenitor, spinal cord injury, NT2/D1