

Abstract

Project Code: RSA5980042

Project Title: *The regulatory mechanism for enhancing osteogenic differentiation potential mesenchymal stem cells derived from postnatal tissues.*

Investigator: Assoc.Prof.Dr. Sirikul Manochantr

E-mail Address : bsirikul@gmail.com

Project Period : 3 years

Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent cells that can give rise to various cell types of the mesodermal lineage. They are promising source for cell therapy in regenerative medicine. Recently, MSCs derived from amnion and umbilical cord, have been suggested as the alternative sources of MSCs for clinical applications. Although MSCs derived from these tissues can differentiate into osteoblast with a phenotypic similarity to that of bone marrow-derived MSCs, the differentiation ability is not efficient. MSCs from amnion and umbilical cord take a longer period of time for differentiation into osteoblasts. Previous studies have shown the benefits of bone morphogenetic protein 2 (BMP-2) in bone tissue regeneration. Therefore, this study aims to examine the effect of BMP-2 on osteogenic differentiation of MSCs derived from amnion and umbilical cord and compare to that of MSCs derived from bone marrow. The degree of osteogenic differentiation after BMP-2 treatment was assessed by alkaline phosphatase expression, alkaline phosphatase (ALP) activity, and the expression profiles of osteogenic differentiation marker genes, Runt-related transcription factor 2 (RUNX-2), Osterix (OSX), and Osteocalcin (OCN). The expression level and function of microRNAs (miRNAs) related to osteogenic differentiation (miR-31, miR-106a and miR-148a) were also studied. The results showed that BMP-2 enhanced the osteogenic differentiation capacity of MSCs derived from both amnion and umbilical cord. In addition, the expression of miRNAs involved in osteogenic differentiation, miR-31, miR-106a, and miR-148a, was examined. The results showed that miR-31, miR-106a, and miR-148a were downregulated during the osteogenic differentiation. After transfection with anti-miRNAs, the expression of miR-31, miR-106a, and miR-148a were downregulated in time dependent manner. ALP activity and osteogenic differentiation marker genes were increased over the time of differentiation. The information of miRNA expression and function during osteogenic differentiation might be useful for the development of new therapeutics or enhanced an in vitro culture technique required for stem cell-based therapies in the bone regeneration.

Keywords: *amnion, bone morphogenetic protein-2, mesenchymal stem cells, microRNA, osteoblast, umbilical cord*

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ RSA5980042

ชื่อโครงการ The regulatory mechanism for enhancing osteogenic differentiation potential of mesenchymal stem cells derived from postnatal tissues.

ชื่อนักวิจัย :รศ.ดร. ศิริกุล มะโนจันทร์

E-mail Address: bsirikul@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ 3 ปี

เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์เป็นเซลล์ที่มีศักยภาพในการเจริญพัฒนาเป็นเซลล์ได้หลายชนิด สามารถคัดแยกได้จากเนื้อเยื่อหลายชนิด สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางเซลล์บำบัด เพื่อรักษาโรคที่เกิดจากความเสื่อมของเซลล์ได้ มีรายงานว่าเยื่อหุ้มรกชั้นในและสายสะดือเป็นแหล่งของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่สามารถคัดแยกได้ง่าย ไม่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดต่อผู้บริจาค จากการศึกษาพบว่าเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเยื่อหุ้มรกชั้นในและสายสะดือมีประสิทธิภาพในการเจริญพัฒนาของเป็นเซลล์กระดูกไม่ด้อยไปกว่าที่ควร การเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเยื่อหุ้มรกชั้นในและสายสะดือเจริญพัฒนาเป็นเซลล์กระดูกนั้นต้องใช้เวลามากกว่าการเหนี่ยวนำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากไขกระดูกเจริญพัฒนาเป็นเซลล์กระดูก จากการศึกษาพบว่า **BMP-2** รวมทั้ง **microRNA** บางชนิด เช่น **miR-31**, **miR-106a** และ **miR-148a** เกี่ยวข้องกับการเจริญพัฒนาเป็นเซลล์กระดูกของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากไขกระดูก อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาผลของ **BMP-2** และ **microRNA** ดังกล่าวในการกระตุ้นการเจริญพัฒนาเป็นเซลล์กระดูกของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเยื่อหุ้มรกชั้นในและสายสะดือ การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ **BMP-2** ต่อการเจริญพัฒนาเป็นเซลล์กระดูกของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเยื่อหุ้มรกชั้นในและสายสะดือเปรียบเทียบกับเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากไขกระดูก รวมทั้งศึกษาผลของ **miR-31**, **miR-106a** และ **miR-148a** ต่อการเจริญพัฒนาของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากเยื่อหุ้มรกชั้นในและสายสะดือเป็นเซลล์กระดูก ผลการศึกษาพบว่า **BMP-2** ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญพัฒนาเป็นเซลล์กระดูก เห็นได้จากการแสดงออกของ **alkaline phosphatase** และ **alkaline phosphatase activity** เพิ่มขึ้น รวมทั้งมีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญพัฒนาเป็นเซลล์กระดูก ได้แก่ **RUNX2**, **osterix** และ **osteocalcin** เพิ่มขึ้นด้วย ที่สำคัญพบว่า การแสดงออกของ **miR-31**, **miR-106a** และ **miR-148a** ลดลงในระหว่างการเจริญพัฒนาเป็นเซลล์กระดูกของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่คัดแยกมาจากไขกระดูก เยื่อหุ้มรกชั้นนอกและสายสะดือ การยับยั้งการแสดงออกของ **miRNA** ดังกล่าว มีผลทำให้เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ที่คัดแยกมาจากไขกระดูก เยื่อหุ้มรกชั้นนอกและสายสะดือเกิดการเจริญพัฒนาเป็นเซลล์กระดูกได้ดีขึ้น ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความสามารถในการเจริญพัฒนาของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์จากสายสะดือและเยื่อหุ้มรกชั้นนอกเป็นเซลล์กระดูกโดยใช้ **microRNA** ดังกล่าว จะเป็นประโยชน์ในด้านของแหล่งทางเลือกของเซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ รวมทั้งเทคโนโลยีการเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญพัฒนาเป็นเซลล์กระดูกโดยใช้ **miRNA** ซึ่งสามารถนำไปศึกษาต่อยอดเพื่อประยุกต์ใช้ในงานที่เกี่ยวข้องกับการซ่อมแซมกระดูกหรืองานทางด้านเซลล์บำบัดได้ในอนาคต

คำสำคัญ เซลล์ต้นกำเนิดมีเซนไคม์ ไมโครอาร์เอ็นเอ เซลล์กระดูก สายสะดือ เยื่อหุ้มรกชั้นใน