

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
ABSTRACT	จ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฉ
อักษรย่อและสัญลักษณ์	ฐ
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	
2.1 เซลล์ต้นกำเนิดและวัสดุชีวภาพ	4
2.2 เซลล์ต้นกำเนิด	4
2.3 เซลล์ต้นกำเนิด Wharton's jelly mesenchymal stem cells	6
2.4 กระบวนการชักนำให้ WJMSC เป็นเซลล์กระดูกอ่อน	8
2.5 การตรวจสอบการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค Real time PCR	9
2.6 วัสดุชีวภาพสำหรับเซลล์กระดูกอ่อน	12
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีวิจัย	หน้า
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	18
3.2 วัสดุสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลอง	18

3.3	การเตรียมวัสดุ PCL/HA เพื่อนำไปทดสอบกับเซลล์	19
3.4	การเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิด BCP-K1	19
3.5	การตรวจสอบความเข้ากันได้ทางชีวภาพของวัสดุ PCL/HA ต่อเซลล์ BCP-K1	20
3.6	การชักนำให้เซลล์ต้นกำเนิดเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน	27
3.7	การตรวจสอบความเป็นเซลล์กระดูกอ่อน	28
3.8	การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	29
บทที่ 4 ผลการวิจัย		
4.1	การลงเกาะของเซลล์ WJMSCs บนวัสดุโพลิเมอร์สังเคราะห์ PCL/HA	30
4.2	การเปรียบเทียบพื้นฐานวิทยาในการลงเกาะของเซลล์	31
4.3	การเพิ่มจำนวนของเซลล์ WJMSCs บนวัสดุโพลิเมอร์สังเคราะห์ PCL/HA	32
4.4	ผลของวัสดุ PCL/HA ที่มีต่อกิจกรรมของเซลล์ WJMSCs	34
บทที่ 5 อภิปรายผลการวิจัย		
5.1	การวิเคราะห์ความสามารถในการลงเกาะของเซลล์	41
5.2	การเปรียบเทียบพื้นฐานวิทยาในการลงเกาะของเซลล์	42
5.3	การวิเคราะห์การเพิ่มจำนวนของเซลล์	42
5.4	การตรวจสอบการแสดงออกของยีน	43
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง		
เอกสารอ้างอิง		46

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก	อุปกรณ์ และสารเคมี	54
ภาคผนวก ข	การเตรียมสารเคมี	57
ภาคผนวก ค	เทคนิคในการวิจัยและการคำนวณ	59
ภาคผนวก ง	ข้อมูลการวิจัยและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	63
ประวัติผู้เขียน		105



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
3.1 แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์แต่ละคู่และอุณหภูมิที่ใช้ในการ annealing	26
3.2 ส่วนผสมในการสังเคราะห์ cDNA ใน PCR tube	27
3.3 ส่วนผสมในปฏิกิริยา real-time -PCR	27



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 แผนภาพตัดขวางของสายสะดือ (umbilical cord)	7
2.2 แผนภาพแสดงกระบวนการพัฒนาของเซลล์ต้นกำเนิดเมสเซนไคม์ไปเป็นเซลล์กระดูกอ่อน	8
2.3 แสดงวิถีอะพอโทซิส (apoptotic pathways)	10
2.4 แสดงการทำงานของ PARP-1 ต่อระดับความเสียหายของสาย DNA	12
2.5 บทบาทของ focal adhesion kinase (FAK) ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเคลื่อนที่และการลงเกาะของเซลล์	15
2.6 เท้าเทียม (lamellipodium) ที่เซลล์ใช้ในการเคลื่อนที่และลงเกาะบนพื้นผิว	16
2.7 cyclin A ที่มีบทบาทควบคุมกระบวนการแบ่งเซลล์	17
3.1 วัสดุ polycaprolactone (PCL/HA)	18
4.1 ปริมาณของ FAK ของเซลล์ WJMSCs จากเซลล์ที่เลี้ยงบนวัสดุทั้ง 5 ชนิด	31
4.2 แสดงปริมาณของ cyclin A ที่วัดได้ทุก ๆ 3 วัน ของเซลล์ที่เลี้ยงบนวัสดุทั้ง 5 ชนิด	33
4.3 ลักษณะของเซลล์ที่ติดสี toluidine blue	34
4.4 การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับ chondrogenic differentiation ได้แก่ Sox9, COL2A1 และ Aggrecan	36
4.5 การแสดงออกของยีนในกลุ่ม stemness ได้แก่ POU5F1 และ SSEA4	37

ภาพ	หน้า
4.6 การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ ได้แก่ <i>Caspase8</i> และ <i>Bcl2</i>	38
4.7 การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการตายของเซลล์ ได้แก่ <i>Apaf1</i> และ <i>PARP1</i>	39
4.8 การแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับ spontaneous differentiation ได้แก่ <i>nestin</i>	40



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

อักษรย่อและสัญลักษณ์

PCL/HA Polycarprolactone/Hydroxyapatite

DMSO Dimethyl sulfoxide

Mg Milligram

ml Milliliter

mm Millimeter

μ M Micromolar

OD Optical density

SD standard deviation

Sig. Significant

$^{\circ}$ C Degree Celsius

μ l Microliter

μ g/ml Microgram per milliliter

v/v Volume by volume