

ABSTRACT

The 3 isolated fractions of chitosan polysulfate (CPS) with different average molecular weight (P1, P2 and P3) with high potency in anticoagulant activity was synthesized in our laboratory. Its involvement in cell proliferation using recall antigen (Purified Protein Derivative, PPD) or mitogen (Phytohemagglutinin, PHA) as the stimulants was elucidated. The test conditions was performed using PBMCs (5×10^4 cells/well) in the presence or absence of PPD (0.31 or 0.62 $\mu\text{g/mL}$) or PHA (0.5 $\mu\text{g/mL}$) and various concentrations (0-8 $\mu\text{g/mL}$) of CPS in comparison to pentosan polysulfate (PPS) and heparin. The results showed that all could significantly inhibited PPD stimulated cell proliferation ($P < 0.01$). This effect was in dose dependent manner. More interesting, the dose dependent effect was more distinguished in product with smaller MW such as P3, PPS and heparin than those of P1 and P2. This suggested that the interference in PPD stimulated cell proliferation might be correlated with size of polymer chains. The decreasing in proliferation was not due to the toxicity of product determined by the dye exclusion assay. In contrast, heparin, not CPS nor PPS inhibited PHA stimulated cell proliferation. The inhibition effect of heparin on PHA stimulated cell proliferation was in dose dependent manner and was not the effect from cell toxicity as well. All results suggested that CPS which was synthetic sulfated polysaccharides as well as PPS involved in the specific antigen presentation process not in the production nor inactivation of cytokine involved in cell proliferation. This might be affected from both specific sequence of sulfation patterns and size of polymer chains.

KEYWORDS: Chitosan polysulfate, sulfation, immune response

บทคัดย่อ

ผู้วิจัยได้สังเคราะห์ไคโตซานพอลิซัลเฟตจากเปลือกปูทะเลในห้องปฏิบัติการและแยกออกเป็น 3 ส่วนที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยต่างกัน (P1, P2 และ P3) การทดสอบพบว่ามีคุณสมบัติยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับเฟิน โคซานพอลิซัลเฟตและสารมาตรฐาน เฮพาริน วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อให้ทราบถึงผลกระทบต่อของไคโตซานพอลิซัลเฟตต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในระบบเซลล์ของมนุษย์ โดยศึกษาผลที่มีต่อการแบ่งตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดเซลล์เดี่ยว (PBMCs) เมื่อถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน (Purified Protein Derivatives, PPD) หรือไมโตเจน (Phytohemagglutinin, PHA) การทดสอบโดยการเพาะเลี้ยง PBMCs (5×10^4 เซลล์/หลุม) ในภาวะที่มีหรือไม่มีสารกระตุ้น PPD (0.31 หรือ 0.62 มก./มล.) หรือ PHA (0.5 มก./มล.) ร่วมกับไคโตซานพอลิซัลเฟต, เฟิน โคซานพอลิซัลเฟตและสารมาตรฐานเฮพารินในความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 5 และ 2 วันสำหรับการกระตุ้นด้วย PPD และ PHA ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าสารประกอบทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวอย่างมีนัยสำคัญเมื่อกระตุ้นด้วย PPD ($P < 0.01$) การยับยั้งเพิ่มขึ้นแปรผันตามปริมาณที่ใช้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่าเช่น P3, เฟิน โคซานพอลิซัลเฟตและสารมาตรฐานเฮพารินแสดงผลยับยั้งได้ชัดเจนกว่า และไม่พบว่าสารประกอบทั้ง 3 ชนิดมีความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อทดสอบด้วยวิธี dye exclusion assay ผลการทดสอบเมื่อใช้ PHA เป็นสารกระตุ้นพบว่าสารมาตรฐานเฮพารินเท่านั้นที่ยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาวอย่างมีนัยสำคัญ และแปรผันตามปริมาณที่ใช้ ผลการทดลองทั้งหมดสามารถสรุปได้ว่าไคโตซานพอลิซัลเฟตและเฟิน โคซาน พอลิซัลเฟตสามารถยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์เม็ดเลือดขาว เฉพาะเมื่อได้รับการกระตุ้นด้วยแอนติเจนเท่านั้น แต่สารมาตรฐานเฮพารินสามารถยับยั้งได้ไม่ว่าจะกระตุ้นด้วยแอนติเจนหรือไมโตเจน อธิบายได้ว่าลักษณะของโครงสร้าง ตำแหน่งและปริมาณซัลเฟตในสายพอลิเมอร์ ตลอดจนน้ำหนักโมเลกุลน่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องและยับยั้งกระบวนการนำเสนอแอนติเจน มากกว่าที่จะยับยั้งกระบวนการสร้างหรือยับยั้งการทำงานของ cytokine ที่เกี่ยวข้องกับการแบ่งตัวของเซลล์

KEYWORDS: Chitosan polysulfate, sulfation, immune response