

Thesis Title	Reconstitution of Intestinal Mucosal Tissue by Long Term Colorectal Adenocarcinoma Cell Line, Caco-2 Culture on Polyvinylidene Fluoride 3D-nanofibrous Scaffold
Author	Miss Sillapaluck Sintubua
Degree	Master of Science (Medical Radiation Sciences)
Thesis Advisor	Assoc.Prof.Dr. Samlee Mankhetkorn

ABSTRACT

The study aimed to investigate the behavior and physiological properties of the cancer stem cells found in Caco-2 cell lines purchased from American Type Culture Collection. The behavior and drug response of cells was studied by real time video imaging under high resolution inverted microscope. Initially the Caco-2 cells were maintained in conventional culture system using Earle's Minimum Essential Medium was $70 \pm 7\%$ positively staining with anti CD34-fluorescein isothiocyanate (FITC) that preserved the stem cells characteristics of self renew and differentiation. The cancer stem cells played crucial role in maintaining the culture and given a differential community. The results also clearly showed that the cells have differential chemosensitivity when grew in specific conditions, such as 2D-dimension-system, spheroid and 3D-dimension-Polyvinylidene fluoride (PVDF) nanofibrous scaffold. The cells were connected among them via the fibrous like structure that later should become the gap junction and spontaneously released microvesicles. The cells can attached and wrapped the PVDF nano-fibers thus spread throughout the surface of the

scaffold. The electron micrograph of the samples at 20 days after culture clearly demonstrated the intestinal mucosal tissue characteristics especially the microvili. The characterization of this ribbon-like structure of the scaffold indicated that the reconstituted tissue has vascular and nervous systems similar to human intestine. It will be a very useful tool for studying relevant research such as finding a mechanism of drug absorption through human intestine.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การประกอบเป็นเนื้อเยื่อลำไส้โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ชนิดคาโคทูบน โครงร่างเส้นใยนาโนโพลีไวนิลลิดีนฟลูออไรด์สามมิติ
ผู้เขียน	นางสาวศิลปลักษณ์ สินธุบัว
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตรรั้งสีการแพทย์)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.สำริ มั่นเขตต์กรณ์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบพฤติกรรมและคุณลักษณะทางฟิสิกส์ (physical properties) ของเซลล์มะเร็งต้นกำเนิดที่พบใน Caco-2 cell line ที่ซื้อมาจากอเมริกันไทป์แคท์เจอร์คอลเลคชัน (American type culture collection) การศึกษาพฤติกรรมการแสดงออกและการตอบสนองต่อยาของเซลล์ทำได้โดยการบันทึกภาพวิดีโอแบบเวลาต่อเนื่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับความละเอียดสูง เริ่มต้นด้วยการเลี้ยงเซลล์คาโคทูในระบบเลี้ยงเซลล์แบบเก่าในอาหารชนิดอีเมม (Earle's Minimum Essential Medium) พบว่าเซลล์ยึดติดแอนติบอดีซีดีสามสิบสี่จำนวน $70 \pm 7\%$ ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้คุณลักษณะของเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็ง โดยที่เซลล์ยังคงคุณสมบัติในการแบ่งตัวและเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์จำเพาะได้ ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดมะเร็งนี้เองที่มีหน้าที่สำคัญที่ทำให้การเลี้ยงเซลล์ดำเนินต่อไปและแสดงการสื่อสารระหว่างเซลล์ที่แตกต่างกัน จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าเซลล์มีระดับความไวต่อสารเคมีแตกต่างกันเมื่อเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่ต่างกันเช่นในระบบสองมิติในโครงร่างแบบเจลและในโครงร่างเส้นใยนาโนโพลีไวนิลลิดีนฟลูออไรด์สามมิติพบเซลล์มีการติดต่อกันผ่านทางโครงร่างที่เหมือนกับเส้นใยแล้วเชื่อมต่อกันเป็นจุดเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ที่อนุญาตให้โมเลกุลและไอออนต่างๆสามารถเคลื่อนที่ระหว่างเซลล์ได้อย่างอิสระ จุดเชื่อมต่อนี้เป็นการเชื่อมต่อระหว่างไซโตพลาสซึมของเซลล์ต่อเซลล์และมีการปล่อยถุงขนาดเล็ก (microvesicles) ออกมาอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้เซลล์ยังเกาะกับเส้นใยและมีการพันหุ้มรอบเส้นใยและแผ่เป็นผืนปกคลุมทั่วผิวด้านบนของแผ่นเส้นใย ภาพจากกล้อง

จุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดของคาโททุเซลล์ที่เลี้ยงบนเส้นใยสามมิติเป็นเวลาสี่สิบวัน แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนถึงลักษณะของเนื้อเยื่อที่เป็นเยื่อผนังลำไส้โดยเฉพาะลักษณะของเส้นขน ขนาดเล็กคล้ายขนแปรงที่เรียกว่าไมโครวิลไล (microvilli) นอกจากนี้การพบลักษณะของโครงสร้าง แบบริบบิ้นซึ่งบ่งบอกถึงเนื้อเยื่อที่ประกอบด้วยระบบขนส่งและระบบประสาท ดังนั้นเนื้อเยื่อ จำลองมะเร็งลำไส้สามมิติที่สร้างขึ้นในระบบการเลี้ยงเซลล์นี้จึงมีความเหมือนอย่างมากเมื่อเทียบกับเยื่อลำไส้ในร่างกายมนุษย์ ซึ่งจะมีประโยชน์อย่างมากในการใช้เป็นตัวแทนในการศึกษา เกี่ยวกับชีววิทยาของโรคมะเร็งหรือการศึกษากลไกการดูดซึมของโมเลกุลยาผ่านผนังลำไส้ซึ่งจะให้ ข้อมูลใกล้เคียงกับในระบบที่เกิดขึ้นจริงในร่างกายที่สามารถนำข้อมูลส่งต่อไปใช้ในระดับพรีคลินิก ได้ต่อไป