

بسمه تعالی



گزارش نهایی طرح

بررسی بازده، مارک‌های سطحی، عملکرد و فنوتیپ و تکثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز
استخوان، در بازه‌های مختلف زمانی پس از مرگ در مدل موشی

کد طرح مصوب جهاد دانشگاهی: 2437

کد مصوب کمیته اخلاق در پژوهش: IR.ACECR.IBCRC.REC.1394.24

مسئول اجرای طرح: دکتر بهنام صادقی

واحد سازمانی مجری: پژوهشکده سرطان پستان

گروه پژوهشی: ایمنی درمانی سرطان و پزشکی بازساختی

ماه و سال اختتام طرح:

شهریور ۱۳۹۷

مشخصات مسئول و همکاران طرح مطابق پرسشنامه مصوب:

ردیف	نام و نام خانوادگی	مسئولیت در طرح	تخصص	وابستگی سازمانی	جمع کل نفر ساعت همکاری در طرح
۱	بهنام صادقی	مسئول اصلی	ایمنولوژی و سلول درمانی	مدیر گروه ایمنی درمانی سرطان و پزشکی ترمیمی پژوهشگاه سرطان پستان	
۲	کیوان مجیدزاده	مشاور	بیوتکنولوژی	سرپرست پژوهشگاه سرطان پستان	
۴	شهرحقیقت	اپیدمیولوژیست	اپیدمیولوژی	عضو هیئت علمی پژوهشگاه سرطان پستان	
۵	سپیده کاظمی	همکار طرح	علوم سلولی تکوین	کارشناس ارشد گروه ایمنی درمانی سرطان و پزشکی ترمیمی پژوهشگاه سرطان پستان	
۶	محمد هادی توحیدلو	همکار طرح	ژنتیک	کارشناس ارشد گروه ایمنی درمانی سرطان و پزشکی ترمیمی پژوهشگاه سرطان پستان	
۷	هدی صدرالسادات	همکار طرح	فیزیولوژی پزشکی	کارشناس ارشد گروه ایمنی درمانی سرطان و پزشکی ترمیمی پژوهشگاه سرطان پستان	

تقدیر و تشکر:

از زحمات ارزشمند و جسورانه همکاران خوبم، خصوصاً خانم دکتر کاظمی و صدرالسادات سپاس ویژه دارم.

فهرست مطالب

۰	چکیده فارسی
۱۳	اهداف اصلی:
۱۳	اهداف ویژه و کاربردی:
۱۷	اهداف کاربردی:
۱۷	فرضیات و یا سوالات پژوهشی (Hypothesis):
۲۳	مکان و زمان مطالعه:
۲۳	تعریف جمعیت مورد مطالعه:
۲۴	حجم نمونه و نحوه محاسبه آن:
۲۴	نمونه‌گیری:
۲۵	ابزار جمع‌آوری داده‌ها:
۲۵	نحوه تجزیه و تحلیل داده‌ها:
۲۵	روش اجرا:
۲۶	بررسی ماهیت سلول‌های مزانشیم استخراج شده:
۲۶	مارکرهای سطح سلولی:
۲۷	بررسی توانایی تمایز:
۲۷	توانایی تمایز به استخوان:
۲۸	توانایی تمایز به غضروف:
۲۸	تمایز به چربی:
۲۹	بررسی شاخص‌های تکثیری:
۲۹	تست کلونی زایی:
۲۹	تعداد دو برابر شدگی جمعیت (PDN) Total Population Doubling Number:
۳۰	تعیین عملکرد مهار سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان بر سیستم ایمنی:
۳۰	نحوه تجزیه تحلیل داده‌ها:
۵۶	منابع:
۵۹	Abstract

فهرست اشکال

- شکل ۱. تعداد سلول های جدا شده از مغز استخوان (پس از آسپیراسیون) به تفکیک گروه های مختلف..... ۳۳
- شکل ۲. میزان زنده ماننی سلول های گروه های مختلف تا ۹ ساعت پس از مرگ موش..... ۳۴
- شکل ۳. مورفولوژی سلول ها پس از کشت ۷۲ ساعته و در کشت اولیه (P۰) به تفکیک گروه های مختلف..... ۳۶
- شکل ۴: میزان بروز مارکرهای CD۴۵ و CD۱۱b در گروه های مختلف..... ۳۹
- شکل ۵: بیان مارکرهای CD۳ و CD۹۰ در گروه های مختلف..... ۴۰
- شکل ۶: بیان مارکرهای CD۴۴ و CD۱۰۵ در گروه های مختلف..... ۴۱
- شکل ۷: بیان مارکرهای CD۲۹ و Sca۱ در گروه های مختلف..... ۴۲
- شکل ۸: توانایی خود نوزایی (کلنی زایی) در گروه های مختلف..... ۴۴
- شکل ۹: نتایج تمایز به غضروف-استخوان و چربی به تفکیک گروه های مطالعه..... ۴۵
- شکل ۱۰: نتایج حاصل از زمان ۲ برابر شدن سلول ها به تفکیک گروه های مطالعه..... ۴۷
- شکل ۱۱: نتایج حاصل از میزان ۲ برابر شدن سلول ها به تفکیک گروه های مطالعه..... ۴۹

چکیده فارسی

اهداف: در حال حاضر مغز استخوان انسان در دسترس ترین و متداولترین منبع سلول های بنیادی از بالغین می باشد. مغز استخوان حداقل دارای دو رده مختلف ولی مرتبط از سلول های بنیادی می باشد. سلول های بنیادی خون ساز (Hematopoietic stem cells) که رده های مختلف سلول های خونی را ایجاد می کند و توانایی ترمیم سیستم خونساز را دارند و سلول های بنیادی غیر خونساز (از منشاء استرومای مغز استخوان) که حمایت کننده عملکرد سیستم خونساز میباشند، و این کار را از طریق ترشح فاکتور های رشد و تماس سلول به سلول انجام می دهند. دسته دوم از سلول های بنیادی مورد اشاره، قابلیت تمایز محدود به برخی به رده های مختلف سلولی (بطور عمده، بافت چربی، استخوان و غضروف) را دارند. یکی از محدودیتهای تامین سلول بنیادی مزانشیمی، کمبود اهدا کننده و پروسه پر زحمت و دردناک آن برای اهدا کنندگان میباشد. هدف از انجام این مطالعه امکان سنجی استخراج سلول های بنیادی مزانشیمی سالم، پس از مرگ، در زمان ها و شرایط دمایی مختلف می باشد. نتایج این تحقیق برای مطالعه بعدی که استخراج این سلولها از جسد انسانی است، راهگشا خواهد بود.

روش مطالعه: به منظور انجام این مطالعه ۲۷ سر موش کوچک آزمایشگاهی، نژاد Balb/c با سن ۶ هفته، از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی پاستور تهیه ، پس از یک هفته دوره سازش پذیری و اطمینان از سلامت ظاهری حیوانات، بطور تصادفی به ۳ گروه کنترل (زمان صفر)، گروه نگهداری جسد در دمای اتاق و گروه نگهداری جسد در دمای ۴ درجه (یخچال) سانتی گراد تقسیم شدند. پس از آن به منظور تلخیص سلول های مزانشیمی، ابتدا موش را با روش دررفتگی گردن، کشته و سپس سلول های مغز استخوان را از استخوانهای ران و ساق موش با روشهای آسپتیک و حذف بافت های همبندی اطراف استخوان جمع آوری کردیم. پس از