

## บทคัดย่อ

Mesenchymal stem cells (MSCs) เป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่มีศักยภาพในการแบ่งตัวและเจริญพัฒนาเป็นเซลล์ได้หลายชนิด จึงมีการศึกษาวิจัย MSCs อย่างกว้างขวางทั้งในห้องปฏิบัติการและในทางคลินิก ในปัจจุบันมีการนำ MSCs จากไขกระดูกมาใช้ในการปลูกถ่ายร่วมกับ hematopoietic stem cells (HSCs) เพื่อช่วยเพิ่มอัตราการ engraftment ของ HSCs และลดการเกิด graft versus host disease (GvHD) ในผู้ที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก อย่างไรก็ตามการนำ MSCs ออกจากไขกระดูก เป็นเหตุการณ์ที่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดต่อผู้บริจาคไขกระดูก นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า MSCs ที่ได้จากไขกระดูกจะมีจำนวนและคุณภาพแปรผันตามอายุ ซึ่งเป็นอุปสรรคในการนำ MSCs จากไขกระดูกมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ดังนั้น การหาแหล่งทางเลือกใหม่ของ MSCs จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยประสบความสำเร็จในการคัดแยก MSCs จากสายสะดือ, Wharton's jelly, รก และเยื่อถุงน้ำคร่ำ โดยใช้วิธีการสับจนละเอียดและย่อยด้วยเอ็นไซม์ พบว่า MSCs ที่ได้จากเนื้อเยื่อหลังสิ้นสุดการตั้งครรภ์สามารถยึดเกาะพลาสติกของจานเพาะเลี้ยง และมีรูปร่างคล้าย fibroblast เช่นเดียวกับ MSCs ที่ได้จากไขกระดูก หลังจากการเพาะเลี้ยง BM-MNCs เป็นเวลา  $8.2 \pm 0.75$  วัน จะพบกลุ่มของเซลล์ที่มีลักษณะคล้าย MSCs เกิดขึ้น ในขณะที่ UC-MSCs, WJ-MSCs, PL-MSCs และ AM-MSCs จะพบกลุ่มของเซลล์ที่มีลักษณะคล้าย MSCs เกิดขึ้นในวันที่  $7.6 \pm 0.88$ ,  $9.8 \pm 0.7$ ,  $18.6 \pm 1.05$  และ  $11.8 \pm 1.19$  ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า UC-MSCs และ WJ-MSCs มีความสามารถในการแบ่งตัวเร็วกว่า BM-MSCs ในขณะที่ PL-MSCs และ AM-MSCs มีความสามารถในการแบ่งตัวช้ากว่า BM-MSCs หลังจากการเพาะเลี้ยงเซลล์จนถึงรุ่นที่ 3 พบว่า UC-MSCs, WJ-MSCs, PL-MSCs และ AM-MSCs มีการแสดงออกของโมเลกุลบนผิวเซลล์ที่จำเพาะต่อ MSCs ได้แก่ CD73, CD90, CD105 มากกว่าร้อยละ 70 และไม่พบการแสดงออกของโมเลกุลบนผิวเซลล์ที่จำเพาะต่อ HSCs ได้แก่ CD45 และ CD34 การศึกษาความสามารถในการเจริญพัฒนาของ UC-MSCs, WJ-MSCs, PL-MSCs และ AM-MSCs พบว่า เซลล์ดังกล่าวสามารถเจริญพัฒนาไปเป็นเซลล์กระดูก และเซลล์ไขมัน ได้เช่นเดียวกับ BM-MSCs การศึกษาในครั้งนี้ ยังพบว่า UC-MSCs, WJ-MSCs, PL-MSCs และ AM-MSCs สามารถลดการเกิดปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันได้เช่นเดียวกับ BM-MSCs ผลการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า MSCs จากเนื้อเยื่อที่เป็นผลผลิตจากการตั้งครรภ์ เป็นแหล่งทางเลือกของ MSCs ที่ดี ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ต่อไปในอนาคต

## ABSTRACT

Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BM-MSCs) are currently being investigated in preclinical and clinical settings because of their self-renewal and multilineage differentiation capacity. BM-MSCs also have an ability to promote hematopoietic stem cell engraftment and prevent graft versus host disease (GvHD) in patients who receive allogeneic stem cell transplantation. However, collecting BM-MSCs requires highly invasive procedure and there is a report indicating that the number of BM-MSC might decline with age. Therefore, MSCs derived from other sources have been considered as an alternative. MSCs derived from post-natal tissues are suitable substitutes for BM-MSCs because of the immaturity of newborn cells. In this study, we successfully isolated MSCs from umbilical cord, Wharton's jelly, placenta and amnion by mechanical separation and subsequent enzymatic digestion. These MSCs exhibited plastic adherence property and fibroblast-like morphology in consistent with those of BM-MSCs. After culture, BM-MNCs can generate MSC-like colonies within  $8.2\pm 0.75$  days while it took  $7.6\pm 0.88$ ,  $9.8\pm 0.75$ ,  $18.6\pm 1.05$ ,  $11.8\pm 1.19$ , days for UC-MSCs, WJ-MSCs, PL-MSCs and AM-MSCs, respectively, to generate MSC-like colonies. UC-MSCs and WJ-MSCs had significantly higher proliferative capacity than BM-MSCs. In contrast, PL-MSCs and AM-MSCs had significantly lower proliferative capacity than BM-MSCs. After culture for three passages, more than 70% of BM-MSCs, UC-MSCs, WJ-MSCs, AM-MSCs and PL-MSCs were homogeneously expressed CD73, CD90 and CD105. In contrast, the expression of CD45 and CD34 (markers of hematopoietic cells) in those populations is negative. In addition, UC-MSCs, WJ-MSCs, AM-MSCs and PL-MSCs also have an ability to differentiate toward osteocyte and adipocyte-lineages in a manner similar to those of BM-MSCs. Furthermore, UC-MSCs, WJ-MSCs, PL-MSCs, AM-MSCs expanded *in vitro* can inhibit the proliferation of alloreactive T-lymphocyte in mixed lymphocyte reactions (MLR) assays. Based on these findings we conclude that MSCs from post-natal sources have the same properties as BM-MSCs and might be used as an alternative source of MSCs for future clinical applications.