บทคัดย่อ

เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำสามารถแสดงคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดได้หลายประการ จึงทำให้เซลล์ดังกล่าวได้รับการมองถึงในฐานะเซลล์ต้นกำเนิดทางเลือกแทนที่เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนซึ่งมีข้องจำกัดทางจริยธรรมอยู่มาก การทำการศึกษาในครั้งนี้จึงพิจารณาเลือกใช้เซลล์ชนิดนี้ เพื่อเหนี่ยวนำไปเป็น เซลล์ตับโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการเหนี่ยวนำเซลล์ไปเป็นเซลล์ตับที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดจากความรู้ ที่ว่าเซลล์ที่บุผนังถุงน้ำคร่ำนั้นมีการแยกตัวออกมาจากส่วนของ epiblast นานก่อนที่จะมี กระบวนการแบ่งตัวในขั้นตอนการเจริญเติบโตของตัวอ่อน ออกเป็นเนื้อเยื่อ 3 ชั้นเพื่อสร้างอวัยวะเกิดขึ้น ทำให้เชื่อว่า เซลล์ดังกล่าวจะยังคงคุณสมบัติ pluripotency ของ epiblast เอาไว้ ในการทดลองนี้จะทำการเก็บ เนื้อเยื่อถุงน้ำคร่ำมาจากการผ่าคลอดแล้วนำเนื้อเยื่อกลับสู่ห้องปฏิบัติการภายใน 4 ชั่วโมง ทำการแยกเซลล์ ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำด้วยการใช้เอนไซม์ย่อย ก่อนทำการเพาะเลี้ยงต่อไป เซลล์ที่แยกได้ส่วนใหญ่ สามารถแสดงผลบวกต่อโปรตีนที่บ่งคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดบางชนิด และอัลบูมินได้ ขั้นตอนการเหนี่ยวนำไปเป็นเซลล์ตับที่ใช้ได้รับการปรับปรุงมาจากวิธีที่ใช้กับ Mesenchymal stem cell (MSC) โดยเพิ่มระยะเวลาในระยะแรก ให้ยาวขึ้น ภายหลังการเหนี่ยวนำ เซลล์ที่ได้สามารถแสดงคุณสมบัติของเซลล์ตับบางประการได้ โดยเฉพาะยีน หรือโปรตีนสำคัญเช่น alpha-fetoprotein (AFP) และ albumin (ALB) ซึ่งสามารถตรวจพบได้ตลอดระยะเวลาการเหนี่ยวนำ รวมถึงเซลล์สามารถผลิต และหลั่ง albumin ออกมาในน้ำยาเลี้ยงเซลล์ โดยพบว่าสามารถสร้างและหลั่ง albumin ได้มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างน้อย 30 เท่า ซึ่งทำให้อนุมานได้ว่า เซลล์ที่ได้จากการเหนี่ยวนำมีการเปลี่ยนแปลงไปจากคุณสมบัติของไฟโบรบลาสต์ไปเป็นเซลล์ที่มีคุณสมบัติของเซลล์ตับมากขึ้น ในการนี้สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้จากการทดลองไปประยุกต์ใช้ หรือศึกษาต่อยอด เพื่อการใช้เป็นการรักษาทางเลือกในรายผู้ป่วยโรคตับในอนาคตได้

คำสำคัญ : เซลล์ต้นกำเนิดจากผนังถุงน้ำคร่ำ เซลล์ตับ เซลล์ต้นกำเนิด การเหนี่ยวนำ การตรวจสอบคุณสมบัติ

Abstract

Amniotic epithelial (AE) cell expressed some embryonic stem cell markers suggesting that it might be a useful source of stem or progenitor cells with less ethical concern comparing to embryonic stem cell. The objective of this study is to find the effective differentiation protocol for human AE (hAE) cell differentiation towards hepatic lineage into mature hepatocyte. The AE cell shift directly from the epiblast long before the gastrulation takes place so the pluripotency still remain. In this study, we collected the fresh amnion directly from the Cesarean section case and the tissues were sent to the laboratory within 4 hours. The AE was collected using mild enzymes and cultured under the proper environment. Most of the cell lines expressed several ES cell markers and albumin. The diffentiation protocol used was adapted from the standard Mesenchymal stem cell (MSC) to hepatocyte protocol with some extended period in the early step. The results showed some improvement in differentiated target cells since more markers have been expressed with the adapted protocol. Eventhough, not all the markers or genes were expressed. The major hepatic markers such as alpha-fetoprotein (AFP) and albumin (ALB) were constantly expressed and differentiated cells were also able to produce and secrete albumin into the culture media at least 30 folds when compare to control group. Therefore it could be assumed that, after diffentiation, AE cells tend to gain more hepatic charactor than the fibroblast characteristic. In conclusion, we could differentiate the AE cell into hepatocyte-like cell. This could be provided for the treatment of choice for hepatic diseases. Further study would be suited for the cell propagation in order for use in practical purpose.

Keyword : Amniotic epithelial cell, hepatocyte, stem cell, differntiation, characterization