

บทที่ 1

บทนำและวัตถุประสงค์

เซลล์น้ำคร่ำ (amniocytes) ที่ได้จากระบวนการเจาะน้ำคร่ำ (amniocentesis) มีประโยชน์ในการวินิจฉัยหาความผิดปกติของโครโมโซมของทารกก่อนคลอด (prenatal diagnosis) โดยภายในน้ำคร่ำ (amniotic fluid) ประกอบไปด้วยเซลล์ที่มาจากเนื้อเยื่อของถุงน้ำคร่ำ (amniotic membrane) และเซลล์ที่มาจากเนื้อเยื่อของทารก (fetal tissues) จากการศึกษากันอย่างกว้างขวางพบว่า มีทั้งเซลล์ต้นกำเนิด (stem cells) และเซลล์ตั้งต้น (progenitor cells) หลายชนิด ปะปนอยู่ในน้ำคร่ำมนุษย์ โดยคาดว่าเป็นเซลล์ที่มาจากส่วนต่างๆของทารกในระหว่างกระบวนการเจริญเติบโต (growth and development) และสามารถนำมาเพาะเลี้ยงให้กลายเป็นเซลล์กล้ามเนื้อ (myocytes) เซลล์กระดูกอ่อน (chondrocytes) เซลล์ประสาท (astrocytes) และเซลล์ตับ (hepatocytes) ได้ในห้องปฏิบัติการ (Delo *et al.*, 2006) องค์ความรู้ดังกล่าวอาจนำไปใช้ประโยชน์ในการปลูกถ่ายเซลล์เพื่อรักษาโรค เช่น โรคทางระบบประสาท (neurodegenerative disease) (Kakishita *et al.*, 2003)

งานวิจัยส่วนใหญ่ได้นำเซลล์น้ำคร่ำมาเป็นต้นแบบในการศึกษาเซลล์ต้นกำเนิดเพื่อการรักษา ไม่ว่าจะเป็นด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (tissue engineering) การปลูกถ่ายเซลล์ (cell transplantation) และการรักษาพันธุกรรม (gene therapy) (Kakishita, 2003; Tsai *et al.*, 2005; Delo *et al.*, 2006) โดยการชักนำให้เซลล์น้ำคร่ำเกิดการเปลี่ยนแปลง (differentiation) ไปเป็นเซลล์ที่จำเพาะในจานเลี้ยง แต่การเพาะเลี้ยงเซลล์น้ำคร่ำเป็นระยะเวลานาน อาจก่อให้เกิดความผิดปกติของเซลล์ เช่น พันธุกรรมและโครโมโซมเปลี่ยนแปลง (Hanson and Caisander, 2005; Maitra *et al.*, 2005) โดยเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปแล้ว (transformed cell) นั้น สามารถพัฒนาไปเป็นเซลล์มะเร็ง (cancer cells) ได้ภายหลังการปลูกถ่ายเซลล์ให้กับผู้ป่วย ซึ่งยังไม่สามารถทำการรักษาหรือกำจัดเซลล์มะเร็งออกไปได้ (Fujikawa *et al.*, 2005) ดังเช่นการนำเซลล์น้ำคร่ำส่งตรวจมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเซลล์มนุษย์และสัตว์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงจนได้เป็นเซลล์สองเชื้อสายคือ human amniotic cell line derived from male (AMC-K46) และ human amniotic cell line derived from female (AC-F2) (Wisedkaew, 2004; Dasa, 2005)

AMC-K46 และ AC-F2 เป็นเซลล์เชื้อสายน้ำคร่ำ ซึ่งเชื่อว่าเกิดจากการกลายพันธุ์แบบเกิดขึ้นเอง (spontaneous mutation) เมื่อถูกเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน (long period cultured) (Dasa, 2005)

และเซลล์ทั้งสองเชื้อสายนี้ มีลักษณะเฉพาะบางประการที่ใกล้เคียงกับเซลล์มะเร็งมากกว่าเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน (embryonic stem cells) เช่น มีจำนวนโครโมโซมผิดปกติแบบ aneuploidy มีความสามารถในการแบ่งตัวได้ไม่จำกัด (continuous cells) อีกทั้งยังไม่พบการแสดงออกของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนเมื่อตรวจสอบด้วย marker ที่จำเพาะและไม่มีการสร้าง embryoid body (Sangngam, 2007)

อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาเนื้อเยื่อต้นกำเนิด (origin) หรือเซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากเนื้อเยื่ออื่นๆ ของทารกที่มีคุณสมบัติเป็นเซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัย (adult stem cells) ซึ่งอาจปะปนอยู่ในเซลล์เชื้อสายทั้งสองนี้ และยังไม่มียานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเซลล์เชื้อสายน้ำคร่ำที่เกิดจากการกลายพันธุ์แบบเกิดขึ้นเองเลย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์มุ่งเน้นในการตรวจสอบเซลล์ที่มีต้นกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อชั้นนอก (ectoderm) หรือชั้นใน (endoderm) เนื่องจากเซลล์ที่มาจากเนื้อเยื่อชั้นกลาง (mesoderm) และเซลล์ส่วนใหญ่ที่พบในสภาพเพาะเลี้ยงจะเป็นเซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) ซึ่งมีการแบ่งตัวได้เร็วกว่าเซลล์ที่มาจากเนื้อเยื่อชั้นอื่น จึงทำให้ง่ายต่อการศึกษาและงานวิจัยที่ใช้เซลล์กลุ่มนี้มากกว่ากลุ่มที่มีต้นกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อเจริญชั้นในหรือเนื้อเยื่อเจริญชั้นนอกซึ่งมีข้อมูลน้อย ทั้งนี้เซลล์น้ำคร่ำที่มาจากเนื้อเยื่อทุกส่วนมีแนวโน้มในการนำไปใช้ประโยชน์ได้เช่นเดียวกัน (Tsai *et al.*, 2005)

ในการตรวจสอบต้นกำเนิดของเซลล์นั้นจะใช้วิธี immunocytochemistry โดยทำการศึกษาแอนติบอดี (antibody) หรือ protein marker สองกลุ่มคือ markers of germ layers และ markers of proliferation ซึ่งในกลุ่มแรกนั้นใช้เพื่อตรวจสอบแหล่งเนื้อเยื่อต้นกำเนิดของเซลล์ ได้แก่ cytokeratin AE1&AE3, vimentin และ Alpha-Feto Protein (AFP) โดย cytokeratin นั้นจำเพาะต่อเซลล์บุผิว (epithelial cells) และเซลล์ที่เจริญมาจากเนื้อเยื่อเจริญชั้นกลาง (Brouty-Boyé *et al.*, 1992; Freshney, 2004) ส่วน vimentin และ AFP จำเพาะต่อเซลล์ที่มาจากเนื้อเยื่อชั้นนอกและชั้นในตามลำดับ (Strulovici *et al.*, 2007) สำหรับ protein marker กลุ่มที่สองคือ markers of proliferation ใช้ในการเปรียบเทียบความสามารถในการแบ่งตัวของเซลล์ ได้แก่ cyclin D1 และ Ki-67 (antigen identified by monoclonal antibody Ki-67) โดย protein marker ทั้งสองนี้เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมกลไกการเกิดเป็นมะเร็งและจำเพาะต่อเซลล์ที่มีการแบ่งตัวซึ่งพบได้ทั้งในเซลล์ปกติและเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้ยังทำการเปรียบเทียบลักษณะความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดและเซลล์มะเร็งที่อาจพบในกลุ่มเซลล์ (subpopulations) ของ AMC-K46 และ AC-F2 โดยศึกษาการแสดงออกของยีน (gene expression) ด้วยเทคนิค semi-quantitative reverse transcriptase PCR และ real-time PCR ซึ่งทำการศึกษาในยีน 2 กลุ่มคือ กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับความเป็นเซลล์ต้นกำเนิด (stem cell related genes) ได้แก่ integrin alpha 6 (*ITGA6*) และ integrin beta 1 (*ITGB1*) และกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับ

ความเป็นเซลล์มะเร็ง (cancer related genes) ได้แก่ homo sapiens v-ski sarcoma viral oncogene homolog (*SKI*), transforming growth factor beta 1 (*TGF- β 1*) และ human telomerase reverse transcriptase (*hTERT*) ทั้งนี้ ผลที่ได้จากการศึกษา มีความสำคัญต่อการนำเซลล์เชื้อสายทั้งสองไปใช้ประโยชน์ในอนาคตและยังช่วยให้ตระหนักถึงความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งอันเนื่องมาจากการแบ่งตัวแบบผิดปกติและการกลายพันธุ์ของเซลล์น้ำคร่ำที่ใช้ในการปลูกถ่ายทดแทนให้แก่ผู้ป่วยได้ในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อตรวจหาเซลล์ที่มีคุณสมบัติเป็นเซลล์ต้นกำเนิดหรือเซลล์มะเร็งที่มาจากเนื้อเยื่อเจริญชั้นนอกหรือชั้นในจากเซลล์เชื้อสายน้ำคร่ำของมนุษย์ คือ AMC-K46 และ AC-F2 โดยเปรียบเทียบกับเซลล์น้ำคร่ำปกติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved