บทคัดย่อ

เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน ถือว่าเป็นเซลล์ที่มีศักยภาพสูงในการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ต่างๆ จากสาเหตุดังกล่าวจึงทำให้มีความหวังในการใช้เซลล์ชนิดนี้เพื่อการรักษาโรคในมนุษย์ ในขณะที่การศึกษาเกี่ยวกับเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในมนุษย์ยังมีข้อจำกัดหลายประการ การพิจารณาเลือกใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากสัตว์ที่ใกล้เคียงกับมนุษย์ เช่น ลิง จึงได้รับความสนใจ ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ศึกษาการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนจากลิงแสม และประสบความสำเร็จในการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนลิงวอก โดยทำการกระตุ้นให้ลิงผลิตไข่มากกว่าปกติแล้วเจาะดูดเก็บไข่จากรังไข่และฉีดอสุจิเข้าสู่ไข่ (ICSI) ก่อนนำตัวอ่อนที่ได้มาทำการผลิตเซลล์ต้นกำเนิด ทั้งจากวิธี immunosurgery ในลิงแสม และ mechanical partial dissection ในลิงวอก จากการทดลองพบว่าตัวอ่อนของลิงแสม และลิงวอก มีการเจริญเข้าสู่ระยะบลาสโตซีสคิดเป็น 14.5% และ 60% ตามลำดับ เมื่อนำตัวอ่อนดังกล่าวมาทำการผลิตเซลล์ต้นกำเนิดพบว่า ในลิงแสมจากตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสทั้งหมด 23 ตัวอ่อน สามารถแยกได้ 15 ICM (65.2 %) เพื่อนำไปผลิตเซลล์ต้นกำเนิด และพบว่ามีเพียง 10 ICMเท่านั้นที่เกาะติดจานเลี้ยงเซลล์และสร้าง outgrowth แต่เปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์อื่นหมดหลังจาก passage ที่ 3 ส่วนในลิงวอก สามารถผลิตเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน ทั้งจากตัวอ่อน ICSI ได้ 2 สายพันธุ์จาก 3 ตัวอ่อนที่สร้าง outgrowth (66.7%) และตัวอ่อนที่เกิดจาก parthenogenetic activationได้ 2 สายพันธุ์ จาก 2 ตัวอ่อน ที่สร้าง outgrowth (100 %) เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนที่ได้มี alkaline phosphatase activity และสามารถแสดงออก marker ที่จำเพาะต่อเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน ได้แก่ Oct3/4, SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81 รวมไปถึงสามารถแสดงออก marker ที่จำเพาะต่อเนื้อเยื่อชั้นกลาง (vimentin) และชั้นใน (alpha-fetoprotein) เมื่อกระตุ้นให้เกิด *in vitro* differentiation ได้ ความรู้ที่ได้จากการทำการศึกษาครั้งนี้ สามารถนำมาใช้เป็นความรู้พื้นฐานเพื่อทำการศึกษาต่อยอด อันจะนำไปสู่ความสำเร็จในการประยุกต์ใช้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนเพื่อการรักษาโรคในมนุษย์ต่อไปได้ในอนาคต

Abstract

Embryonic stem cell is the cell with the unlimited differentiation ability. By this act, the use of this kind of cell in therapeutic aspect has been raised as one of the alternative treatment for human diseases. Anyway, many ethical concerns on human embryonic stem cell researching still remain and this was the off limited on this field of study. An alternative way is to use the close related species with human as a model. In this study, the crab-eating monkey and rhesus monkey were used as the model. Ovum picked-up was run on the multiple-ovulated females and the embryos were produced by intracytoplasmic sperm injection (ICSI). Inner cell mass (ICM) were collected by immunosurgery protocol in crab-eating monkey and mechanical partial dissection protocol in rhesus monkey and used as the source of embryonic stem cell establishment. Blastocyst rate of crab-eating monkey and rhesus monkey were 14.5 % and 60 %, respectively. In crab-eating monkey group, total of 15 ICM (65.2%) were successfully collected (from 23 blastocyst used) and only 10 could produced outgrowths. Anyway, all of the outgrowths were disappeared after passage 3. In rhesus monkey group, the total of 2 embryonic stem cell lines (66.7%) were established from 3 ICM outgrowths in ICSI group and another 2 embryonic stem cell lines (100 %) were established from 2 ICM outgrowths in parthenogenetic activated group. All the embryonic stem cell lines showed alkaline phosphatase activity and positive expression on embryonic stem cell markers (Oct3/4, SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81) and also showed the positive results on germ layer markers (vimentin for mesoderm and alpha-fetoprotein for endoderm) after induced *in vitro* differentiation. From this study, the knowledge gained could be used as the basic knowledge for human embryonic stem cell researching in order to use this kind of cell for therapeutic purposes.