

ความรู้เบื้องต้นของชีววิทยาเซลล์ต้นกำเนิด

Overview of Stem Cell Biology

ดร. กศณีย์ เพ็ญไทย

ภาควิชาจุลชีววิทยา-บริเวชวิทยา, คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล, มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพมหานคร ๑๐๓๐๐.

เซลล์ต้นกำเนิดและคุณสมบัติจำเพาะ

เซลล์ต้นกำเนิด หรือ สเต็มเซลล์ (stem cells) คือ เซลล์อ่อนที่ยังเจริญเติบโตไม่เต็มที่ ซึ่งสามารถจัดหาหรือสร้างได้จากเซลล์ในหลายอวัยวะของร่างกาย เซลล์ต้นกำเนิดมีคุณสมบัติพิเศษ ๓ ประการ^{๑-๓} ดังนี้

๑. เซลล์ต้นกำเนิดเป็นเซลล์ที่ไม่ได้ทำหน้าที่เฉพาะเจาะจง (undifferentiated cell) เซลล์ต้นกำเนิดไม่มีโครงสร้างหรือลักษณะเป็นเนื้อเยื่อจำเพาะที่จะใช้อำนวยให้สามารถทำหน้าที่เฉพาะเจาะจง และเซลล์ต้นกำเนิดจะรักษาสภาพนี้ไว้แม้อยู่ร่วมกับเซลล์ข้างเคียงที่ทำหน้าที่เฉพาะเจาะจง (differentiated cell) ในอวัยวะต่าง ๆ ได้

๒. เซลล์ต้นกำเนิดสามารถเปลี่ยนแปลงและพัฒนาเพื่อไปทำหน้าที่ต่าง ๆ (differentiation) โดยปกติแล้ว เซลล์ต้นกำเนิดที่มีแหล่งที่มาจากอวัยวะ ซึ่งเจริญวัยเต็มที่แล้วจะสามารถเปลี่ยนแปลง (differentiation) ต่อไปเป็นเซลล์จำเพาะชนิดที่พบอยู่ในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะดังกล่าวนั้น เช่น เซลล์ต้นกำเนิดที่สกัดแยกมาจากไขกระดูก จะสามารถเปลี่ยนไปเป็นเซลล์เม็ดเลือดชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเกล็ดเลือด อย่างไรก็ตามงานวิจัยในช่วงระยะเวลาสองถึงสามปีที่ผ่านมาได้มีการค้นพบว่า เซลล์ต้นกำเนิดที่

สกัดแยกมาจากเนื้อเยื่อหรืออวัยวะชนิดใดชนิดหนึ่งนั้นสามารถเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ชนิดจำเพาะที่อยู่ในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะชนิดอื่นได้ หรือ **ที่เรียกว่า พลาสติกติตี (Plasticity)** เช่น เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ประสาท หรือ เซลล์ตับสามารถเปลี่ยนเป็นเซลล์ที่ผลิตอินซูลินได้ เป็นต้น

๓. เซลล์ต้นกำเนิดเป็นเซลล์ที่สามารถแบ่งเซลล์ลักษณะเดิมทดแทนตัวเองได้ (self-renewal) เซลล์ต้นกำเนิดไม่เหมือนเซลล์จำเพาะตรงที่มีความสามารถในการแบ่งตัวเพื่อสร้างตัวเองทดแทนขึ้นมาใหม่ได้หลายครั้ง โดยสามารถเพิ่มจำนวนจากเซลล์เริ่มต้นเพียงไม่กี่เซลล์ไปเป็นหลายล้านเซลล์ในระยะเวลาสั้นๆ และ เซลล์ที่ถูกสร้างจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์ต้นกำเนิดนี้ ก็ยังสามารถคงคุณลักษณะเดิมและแบ่งตัวเพื่อสร้างเซลล์ทดแทนตัวเองขึ้นมาใหม่ได้อีกเช่นกัน เรียกความสามารถที่เซลล์ต้นกำเนิดสามารถแพร่ขยายและเพิ่มจำนวนเซลล์ว่า **proliferation** และ เรียก ความสามารถที่เซลล์ต้นกำเนิดสามารถเพิ่มจำนวนอย่างไม่จำกัดโดยเซลล์ที่แบ่งออกมาใหม่นั้นจะยังคงรักษาคุณสมบัติเดิมของเซลล์ต้นกำเนิดว่าการเกิด self-renewal

จากการที่พบคุณสมบัติเด่นของเซลล์ต้นกำเนิดที่สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ (proliferation) เพื่อ

ทดแทนเซลล์จำเพาะ (differentiated cell) ในแหล่งอวัยวะนั้น ๆ ได้หลายครั้ง และยังสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนจากเซลล์เริ่มต้นเพียงไม่กี่เซลล์ไปเป็นหลายล้านเซลล์ได้อย่างไม่จำกัดภายในห้องทดลอง ซึ่งแตกต่างจากเซลล์จำเพาะในร่างกายอื่น ๆ ทำให้นักวิทยาศาสตร์เกิดความสนใจจะพัฒนาเทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิด (stem cell technology) มาใช้ในการแพทย์โดยหวังจะจัดหาเซลล์ต้นกำเนิดจากแหล่งร่างกายและพัฒนาใช้ในการรักษาภาวะทุพพลภาพทางร่างกายที่ไม่สามารถรักษาด้วยการใช้ยา หรือ การผ่าตัดได้ เช่น โรคกล้ามเนื้อหัวใจตาย โรคไตวายเรื้อรัง โรคตับแข็ง โรค Parkinson's ตลอดจนโรคที่เกี่ยวข้องกับการทำงานผิดปกติของเซลล์ในร่างกาย เช่น โรคมะเร็ง เป็นต้น จึงทำให้เกิดเป็นแนวทางการรักษาใหม่ ที่เรียกว่า “Regenerative Medicine” ที่มุ่งซ่อมแซมภาวะพิการเรื้อรังและเสื่อมสภาพโดยการปลูกถ่ายเซลล์ใหม่ที่ได้จากเซลล์ต้นกำเนิดเข้าไปในอวัยวะเพื่อให้ทำหน้าที่ทดแทนเซลล์ที่มีอยู่เดิมซึ่งเสื่อมสภาพไป ทำให้อวัยวะนั้น ๆ สามารถกลับมาทำงานต่อไปได้ ซึ่งอาจนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงครั้งใหญ่ในการรักษาโรคทางการแพทย์ในอนาคต

ปัจจุบันการจำแนกชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดได้มีรายงานไว้ ๒ แบบ ได้แก่

(๑) การจำแนกตามแหล่งที่มาของเซลล์ต้นกำเนิด (Source)

- ๑.๑ เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน (embryonic stem cells)
- ๑.๒ เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวเต็มวัย (adult stem cells)
- ๑.๓ เซลล์ต้นกำเนิดจากลูกอ่อน (fetal stem cells)

(๒) การจำแนกตามลำดับขั้นของพัฒนาการหรือศักยภาพของเซลล์ต้นกำเนิด (Potency)

- ๒.๑ Totipotent stem cells
- ๒.๒ Pluripotent stem cells
- ๒.๓ Multipotent stem cells

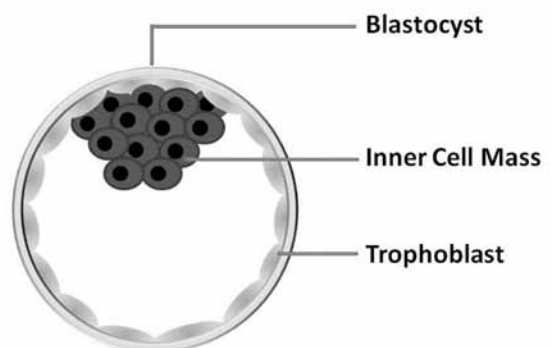
การจำแนกเซลล์ต้นกำเนิดตามแหล่งที่มา (Source) สามารถแบ่งเซลล์ต้นกำเนิด ออกได้เป็น ๓ ชนิด ได้แก่

๑. เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน (embryonic stem cells)

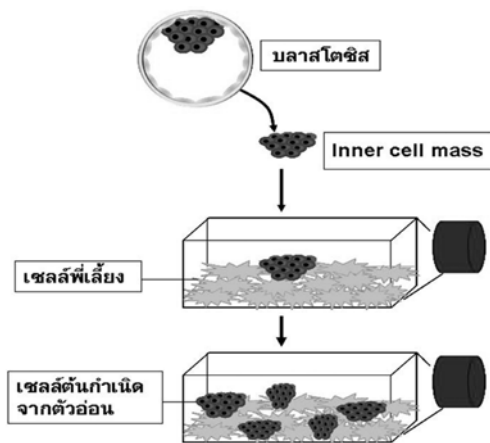
เป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากเซลล์ของตัวอ่อนในระยะบลาสโตซิสต์ (blastocyst) หลังการปฏิสนธิ ๕-๗ วัน ซึ่งตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์นี้จะประกอบไปด้วยเซลล์ ๒ ชนิด คือ เซลล์ trophoblast และเซลล์ inner cell mass ซึ่งเซลล์ inner cell mass นั้นมีคุณสมบัติแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ดีและมีความสามารถพัฒนาเป็นเซลล์ทุกชนิดของร่างกาย หรือที่เรียกว่า “uncommitted” การสร้างเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนทำโดยการนำเซลล์ส่วนที่เป็น inner cell mass นี้ออกมาเพาะเลี้ยงเป็นเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน^{๓-๕} ด้วยใช้เทคนิค Immunosurgery เพื่อทำลายเซลล์ trophoblast ด้านนอกให้หมดไปก่อนและให้เหลือเพียงส่วนที่เป็น inner cell mass มาใช้สร้างเป็นเซลล์ต้นกำเนิด และด้วยสาเหตุที่เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนสร้างมาจากเซลล์ inner cell mass จึงทำให้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนมีศักยภาพสูงมาก สามารถแบ่งตัวได้อย่างไม่จำกัดและสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ร่างกายได้เกือบทุกชนิด ตามคุณสมบัติของ inner cell mass

๒. เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวเต็มวัย (adult stem cells)

เป็นเซลล์ต้นกำเนิดในผู้ใหญ่ พบได้ในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะต่างๆ ในสิ่งมีชีวิตที่พัฒนาถึงระยะโตเต็มวัย



ภาพแสดงลักษณะเซลล์ของตัวอ่อนในระยะบลาสโตซิสต์ (blastocyst) ที่ประกอบด้วยเซลล์ trophoblast และ inner cell mass



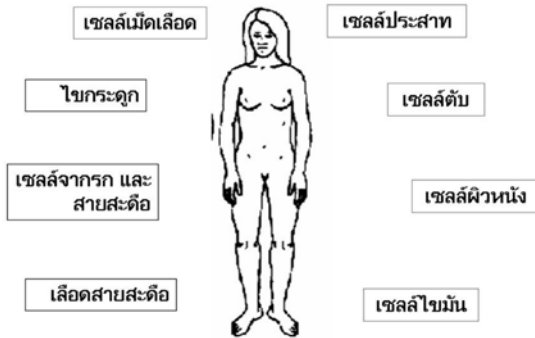
ภาพแสดงที่มาของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนซึ่งทำโดยการแยกเซลล์ inner cell mass มาเพาะเลี้ยง

แล้ว ซึ่งในบางรายงานอาจกล่าวรวมถึงเซลล์ต้นกำเนิดที่พบในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตที่พัฒนาไปเกินกว่าระยะตัวอ่อน ได้แก่ เซลล์ลูกอ่อน เซลล์ต้นกำเนิดในกลุ่มนี้แม้จะอยู่ในอวัยวะที่โตเต็มวัยแล้วแต่เซลล์ยังคงไม่พัฒนาไปเป็นเซลล์จำเพาะชนิดใดชนิดหนึ่ง โดยยังมีศักยภาพสามารถสร้างทดแทนตัวเองขึ้นมาใหม่ได้ (self renewal) พร้อมทั้งสามารถพัฒนาเปลี่ยนแปลง (differentiation) ต่อไปเป็นเซลล์จำเพาะชนิดต่าง ๆ ของอวัยวะนั้น ๆ ได้ด้วย เช่น เซลล์ต้นกำเนิดที่พบในสมองที่สามารถพัฒนาไปเป็นเซลล์ในระบบประสาทได้ โดยธรรมชาติแล้วเซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัยมีหน้าที่หลัก คือ การรักษา ทดแทน และซ่อมแซมเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่มีเซลล์ต้นกำเนิดนั้นอยู่ ให้มีความสมบูรณ์สามารถทำงานได้ปกติ ทำให้บางที่เราเรียก เซลล์ต้นกำเนิดที่มาจากอวัยวะซึ่งเจริญวัยเต็มที่แล้วอย่างนี้ว่า เซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกาย หรือ Somatic stem cells ส่วนเซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัยอีกชนิดหนึ่งที่ถูกกล่าวถึง คือ Mesenchymal stem cells (MSC) เซลล์ต้นกำเนิดชนิดนี้มีศักยภาพเป็นเซลล์ต้นกำเนิดชนิด multipotent มีความสามารถในการพัฒนาเป็นเซลล์ร่างกายชนิดต่าง ๆ เช่น เซลล์กระดูก (osteoblast), เซลล์กระดูกอ่อน (chondrocyte) และเซลล์ไขมัน (adipocyte) มักมีลักษณะเป็นเซลล์ขนาดเล็ก บางเรียวยาว และอยู่อย่างกระจายตัว มีนิวเคลียส

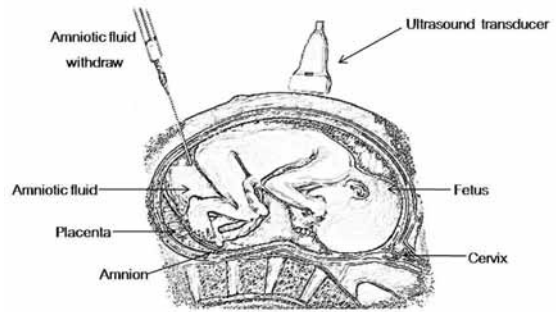
ขนาดใหญ่ มีคุณสมบัติจำเพาะสามารถแสดงโปรตีน SH2, SH3, CD29, CD44, CD73, CD90 และ บนผิวเซลล์ เซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัยชนิด MSC นี้ สามารถพบได้จากอวัยวะหรือเนื้อเยื่อต่าง ๆ ในร่างกายได้หลายอวัยวะ เช่น โลหิต รก/สายสะดือ ตับ ไต ผิวหนัง สมอง ไขกระดูก และ กระแสเลือด เป็นต้น การค้นพบเซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัยได้สร้างความหวังให้กับนักวิทยาศาสตร์ถึงความเป็นไปได้ในการนำเซลล์ต้นกำเนิดจากอวัยวะที่เจริญวัยเต็มที่แล้วมาปลูกถ่ายให้กับผู้ป่วย แต่ด้วยเหตุที่ว่าเซลล์ต้นกำเนิดในกลุ่มนี้มีแหล่งได้มาจากอวัยวะหรือเนื้อเยื่อที่ได้รับการพัฒนาเปลี่ยนแปลง (differentiation) ไปจนสมบูรณ์แล้ว จึงทำให้เซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัยมีศักยภาพที่ด้อยกว่าเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนทั้งในความสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนเซลล์ (proliferation) ที่ทำได้ไม่ถี่นักและความสามารถในการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ร่างกาย (differentiation) ที่ไม่สามารถพัฒนาไปเป็นเซลล์ได้หลากหลายชนิดเหมือนเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน และยังไม่นับว่าเซลล์ต้นกำเนิดชนิดนี้จะสามารถเจริญข้ามไปเป็นเซลล์ของอวัยวะหรือเนื้อเยื่ออื่น ๆ ได้จริงหรือไม่และมีข้อจำกัดมากน้อยเพียงใด

๓. เซลล์ต้นกำเนิดจากลูกอ่อน (fetal stem cells)

เป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากเซลล์ของลูกอ่อนระหว่างที่อยู่ในครรภ์มารดา การสร้างสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดในกลุ่มนี้ทำได้โดยนำเซลล์ต้นกำเนิดจากทารกในครรภ์มาเพาะเลี้ยงและเพิ่มจำนวน หรือนำเซลล์ที่หลุดลอกออกมาจากร่างกายของทารกซึ่งลอยอยู่ในน้ำคร่ำ มาคัดแยกเก็บเอาเซลล์ต้นกำเนิดเพื่อเพาะเลี้ยง เซลล์ต้นกำเนิดในกลุ่มนี้ ได้แก่ เซลล์ต้นกำเนิดน้ำคร่ำ เป็นต้น และด้วยจากแหล่งที่มาของเซลล์ต้นกำเนิดลูกอ่อนนั้นได้มาจากเซลล์ในระยะที่อวัยวะและเนื้อเยื่อต่าง ๆ กำลังพัฒนาตามทารกในครรภ์ (differentiation) ทำให้เซลล์ต้นกำเนิดชนิดนี้มีระดับศักยภาพอยู่ตรงกลาง (intermediate) ของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน และเซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัย และมีคุณสมบัติจำเพาะบางประการคร่อมอยู่ระหว่างเซลล์ต้นกำเนิดทั้ง 2 ชนิด จากรายงาน



ภาพตัวอย่างแสดงที่มาของเซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัยที่ได้มาจากอวัยวะหนึ่งในร่างกาย



ภาพตัวอย่างแสดงการได้มาของเซลล์ต้นกำเนิดจากลูกอ่อนที่หลุดลอยอยู่ในน้ำคร่ำ

ของเซลล์ต้นกำเนิดลูกอ่อนจาก น้ำคร่ำพบคุณสมบัติบางอย่างของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน เช่น การแสดงออกของโปรตีน Oct-4 และ SSEA-4 และมีความสามารถในการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ดีมาก ซึ่งต่างจากประสิทธิภาพการแบ่งตัวของเซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัย นอกจากนี้ยังสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์ในเนื้อเยื่อได้ทั้ง ๓ ชนิด ได้แก่ ectoderm mesoderm และ endoderm ด้วย แต่เนื่องจากการเก็บเซลล์ต้นกำเนิดจากอวัยวะของลูกอ่อนนั้นก่อให้เกิดความเสี่ยง และอาจเป็นปัญหาทางจริยธรรม จึงมีแหล่งได้มาไม่มาก ทำให้เซลล์ต้นกำเนิดจากลูกอ่อนนั้นมีไม่กี่ชนิดและด้วยสาเหตุที่ว่าอวัยวะของทารกในครรภ์ที่ได้รับการพัฒนาให้เจริญเติบโตแล้วแม้ยังไม่สมบูรณ์เท่าตัวเต็มวัยก็ตาม ทำให้บางรายงานอาจจัดเซลล์ต้นกำเนิดจากลูกอ่อนรวมไว้ในกลุ่มเดียวกับเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวเต็มวัย

การจำแนกเซลล์ต้นกำเนิดตามพัฒนาการหรือศักยภาพ (Potency)

สามารถแบ่งชนิดของเซลล์ต้นกำเนิดตามลำดับขั้นของพัฒนาการ ออกเป็น ๓ ชนิด

๑. Totipotent stem cells

เป็นเซลล์ต้นกำเนิด ในระยะแรกสุดมีศักยภาพสามารถที่พัฒนาไปเป็นเซลล์จำเพาะได้อย่างไม่จำกัด ชนิด ทั้งเจริญไปเป็นเซลล์ของตัวอ่อนทั้งตัว (embryonic

tissue) และเนื้อเยื่อรอบนอกตัวอ่อน (extra-embryonic tissue) เซลล์ต้นกำเนิดที่มีศักยภาพนี้สามารถพบได้ในเซลล์ตัวอ่อนของมนุษย์ระยะ zygote ก่อนถึงระยะบลาสโตซิสต์

๒. Pluripotent stem cells

เป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่พบในระยะต่อมาจาก Totipotent stem cells มีความสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ในอวัยวะต่าง ๆ ของตัวอ่อน (embryonic tissue) หรือ ของร่างกายได้เกือบทุกชนิด ซึ่งเซลล์ต้นกำเนิดที่มีศักยภาพนี้ ได้แก่ เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน (embryonic stem cells) ซึ่งเจริญมาจากเซลล์ส่วน inner cell mass ของตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ และเซลล์ต้นกำเนิดที่มาจากลูกอ่อน หรือ ทารกในครรภ์ (fetal stem cells)

๓. Multipotent stem cells

เซลล์ต้นกำเนิดชนิดนี้มีความสามารถที่จำกัดกว่าเมื่อเทียบกับ Pluripotent stem cells เนื่องจากไม่สามารถพัฒนาไปเป็นเซลล์ทุกชนิดของร่างกายได้ เป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่อยู่ในเนื้อเยื่อเฉพาะอย่าง หรือ อวัยวะใดอวัยวะหนึ่ง หรือระบบใดระบบหนึ่งที่สามารถพัฒนาเป็นเซลล์ภายในระบบนั้นได้หลากหลายชนิด เซลล์ต้นกำเนิดชนิดนี้ เช่น เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต (hematopoietic stem cells) ที่สามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์เม็ดเลือดได้ทุกชนิด ได้แก่ Red blood cell, Lymphocytes,

Neutrophils, Basophils, Eosinophils, Monocytes, Macrophages, Platelets

ส่วน Progenitor cell คือ เซลล์ที่พัฒนาต่อมาจากเซลล์ต้นกำเนิดข้างต้น สามารถพัฒนาเป็นเซลล์ชนิดที่พบได้ตามอวัยวะนั้น ๆ สามารถพบได้ตามอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย มีคุณลักษณะคล้ายกับเซลล์ต้นกำเนิดชนิด multipotent แต่ขาดความสามารถแบ่งเซลล์ทดแทนตนเองได้ (self-renewal)

การเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิด

การที่จะเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดให้มีการแบ่งตัวและการเพิ่มจำนวนโดยยังสามารถคงคุณสมบัติเดิมของเซลล์ต้นกำเนิดไว้ไม่ให้เกิดการพัฒนาเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ร่างกาย (differentiation) นั้น จำเป็นต้องควบคุมปัจจัยทั้งภายในและภายนอกเซลล์ให้มีความเหมาะสมเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดชนิดนั้น ๆ ปัจจัยภายในที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดหมายถึง การแสดงออกได้อย่างถูกต้องของยีนต่าง ๆ ซึ่งก็อาจได้รับผลมาจากปัจจัยภายนอกด้วย ส่วนปัจจัยภายนอก ได้แก่ สารเคมีที่หลั่งมาจากเซลล์อื่นที่อยู่ข้างเคียง รวมทั้งโมเลกุลของสารประกอบในของเหลวที่ล้อมรอบเซลล์ในห้องปฏิบัติการ เช่น แร่ธาตุ สารอาหาร และสารกระตุ้นการเจริญเติบโต (growth factor) ที่อยู่ในสารละลายที่ใช้เพาะเลี้ยงเซลล์ อีกทั้งสภาวะก๊าซ อุณหภูมิ และความชื้น เหล่านี้ถือเป็นปัจจัยภายนอกสำคัญที่สามารถส่งผลโดยตรงต่อการกระตุ้น molecular signal ภายในเซลล์ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้^๕ ซึ่งหลักการเพาะเลี้ยงเซลล์ในห้องปฏิบัติการ คือ การให้เซลล์ต้นกำเนิดได้อยู่ในสภาวะแวดล้อมที่คล้ายคลึงหรือใกล้เคียงกับเมื่ออยู่ในร่างกายตามธรรมชาติมากที่สุด

การเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน

เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนนั้นพัฒนามาจากเซลล์ส่วนที่เป็น inner cell mass ซึ่งโดยลักษณะจะเป็นเซลล์ขนาดเล็กเกาะกันแน่นเป็นก้อนวางอยู่บนส่วนที่เป็นเซลล์ trophoblast ในตัวอ่อนระยะ blastocyst และเมื่อนำเซลล์ inner cell mass มาเพาะเลี้ยงสร้างเป็นเซลล์ต้นกำเนิดตัว

อ่อนภายนอกร่างกาย จึงจะเห็นได้ว่าสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน (embryonic stem cell line) มีลักษณะเป็นเซลล์ขนาดเล็กเกาะกันแน่นเป็นโคลนคล้ายเซลล์ inner cell mass และการเพาะเลี้ยงจำเป็นต้องให้เกาะอยู่บนเซลล์ชนิดอื่นที่เรียกว่า **เซลล์พี่เลี้ยง (feeder cell)** เพื่อให้คล้ายคลึงกับการเจริญเติบโตในภาวะปกติตามธรรมชาติของเซลล์ inner cell mass เซลล์พี่เลี้ยงจะทำหน้าที่หลั่งสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและคงคุณสมบัติเดิมให้แก่เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน ซึ่งในปัจจุบันเซลล์พี่เลี้ยงที่นิยมใช้สำหรับการสร้างสายพันธุ์และเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน คือ เซลล์ไฟโบรบลาสต์ (fibroblast) ที่มาจากลูกอ่อนหนู (embryo) อายุ ๑๒.๕-๑๓.๕ วัน ขณะที่อยู่ในครรภ์แม่หนู โดยในช่วงเวลานี้เป็นช่วงที่ fetal mouse กำลังสร้างและพัฒนาระบบสมองและมีการหลั่งสาร basic fibroblast growth factor (bFGF) ซึ่งเป็น growth factor ที่สำคัญในปริมาณมาก ทำให้เซลล์พี่เลี้ยงที่ได้จากเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากลูกอ่อนหนูในระยะนี้หลั่งสาร bFGF ออกมาในปริมาณสูงและกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์ต้นกำเนิด^๖ และนอกจากนี้ mouse embryonic fibroblast ยังหลั่งสารจำพวก leukemia inhibitory factor (LIF) และ growth factor ชนิดอื่นด้วย โดยพบว่า bFGF และ LIF มีกลไกการทำงานคล้ายคลึงและร่วมกันในการกระตุ้นปฏิกิริยาต่อเนื่อง (cascade) ของ tyrosine kinase receptor^๗ โดยผ่าน intermediates ได้แก่ Ras, Raf, MEK (MAP kinase kinases) and MAP kinase ตามลำดับ ใน **STAT3 pathway** และทำปฏิกิริยา phosphorylation กับ transcription factor ในนิวเคลียสช่วยกระตุ้นให้เซลล์ต้นกำเนิดมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนโดยที่เซลล์ต้นกำเนิดยังมีคุณสมบัติ self renewal และคงสถานะ pluripotent state^๘ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสารกระตุ้นการเจริญเติบโต (growth factor) แต่ละชนิดอาจมีบทบาทที่แตกต่างกันในเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของสิ่งมีชีวิตที่ต่างชนิดกัน เช่น สาร bFGF เป็น growth factor ที่จำเป็นต่อการคงคุณสมบัติ self-renewal ในเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของมนุษย์^๙ โดยเป็นการส่งสัญญาณกระตุ้นการทำงานผ่าน Wnt pathway ในขณะที่ LIF เป็น growth factor ที่จำเป็นต่อการคงคุณสมบัติ self-renewal ในเซลล์ต้นกำเนิดตัว

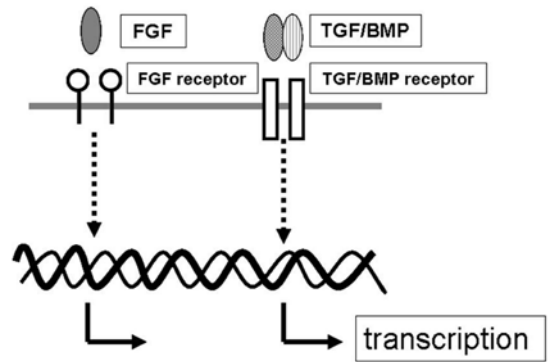
อ่อนของหนู^{๑๒} ซึ่งเป็นการส่งสัญญาณกระตุ้นการทำงานผ่าน LIF pathway^{๑๓}

การเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดจากลูกอ่อนและตัวเต็มวัย

การเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดชนิดที่มาจากอวัยวะที่กำลังพัฒนา เช่น เซลล์ต้นกำเนิดจากลูกอ่อน หรือการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดชนิดที่ไม่ได้มาจากอวัยวะที่โตเต็มวัยแล้วนั้นโดยทั่วไปจะมีความซับซ้อนเหมือนกับการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน การเพาะเลี้ยงจะคล้ายคลึงกับการเพาะเลี้ยงเซลล์ในร่างกายทั่วไป เป็นการเพาะเลี้ยงแบบเรียงตัวเป็นชั้นเดียว (monolayer) บนภาชนะเพาะเลี้ยง แต่เพื่อช่วยให้เซลล์ต้นกำเนิดคงสภาพความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดได้ยาวนานขึ้น จึงต้องมีการเติมสารกระตุ้นการเจริญเติบโต (growth factor) ที่เหมาะสมลงไปในการเพาะเลี้ยงด้วย ซึ่งชนิดของ growth factor ที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงนั้นจะมีความสัมพันธ์กับวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ (signal pathway) ของการคงสภาพ self-renewal และ undifferentiation ของเซลล์ต้นกำเนิด ซึ่ง growth factor ส่วนใหญ่ที่มักพบเติมอยู่ในสารอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัย ได้แก่ bFGF, Epidermal growth factor (EGF), Transforming growth factor beta (TGF- β) เป็นต้น

การตรวจทางห้องปฏิบัติการถึงคุณสมบัติและลักษณะจำเพาะของเซลล์ต้นกำเนิด

การตรวจสอบว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้นั้นเป็นเซลล์ต้นกำเนิดหรือไม่ จำเป็นต้องทดสอบถึงการมีคุณสมบัติพื้นฐานที่จำเพาะของเซลล์ต้นกำเนิดบนเซลล์นั้น เรียกว่า การทำ Characterization โดยวิธีการที่เป็นมาตรฐานในกระบวนการตรวจสอบนี้จะทำการตรวจสอบคุณสมบัติที่สำคัญของเซลล์ต้นกำเนิด ใน ๒ ประการ คือ (๑) สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้โดยยังรักษาลักษณะเดิมไว้ได้ และ (๒) สามารถเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นเซลล์ร่างกายได้



ภาพแสดงความสัมพันธ์กับวิถีการส่งสัญญาณภายในเซลล์ (signal pathway) ของการคงสภาพ self-renewal และ undifferentiation ของเซลล์ต้นกำเนิด

การตรวจสอบคุณสมบัติและลักษณะจำเพาะของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน

๑) ความสามารถคงสภาพสายพันธุ์

โดยเพาะเลี้ยงเซลล์ (culture) และแยกเซลล์เพื่อเพิ่มปริมาณ (subculture) โดยเปลี่ยนถ่ายใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ใหม่เป็นระยะเวลานานเพื่อตรวจสอบว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้นี้ ยังมีความสามารถในการสร้างตัวเองขึ้นมาใหม่อย่างต่อเนื่องได้เป็นระยะเวลานาน โดยที่เซลล์ที่ได้ยังคงมีลักษณะเป็นเซลล์ที่ไม่จำเพาะอยู่

๒) การแสดงออกของโปรตีนที่จำเพาะ

เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนเป็นเซลล์ที่มีศักยภาพเป็น pluripotent cells ดังนั้นการตรวจสอบจึงตรวจหาการแสดงออกของโปรตีนที่จำเพาะของ pluripotent stem cells ซึ่งได้แก่ Octamer-binding transcription factor 4 (Oct-4 หรือ POU5F-1), Nanog และ SRY-box2 (SOX2) นอกจากนี้ เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนยังต้องสามารถแสดงแอนติเจนที่จำเพาะบนผิวเซลล์ (Surface Markers) จำพวก Stage specific embryonic antigens type 1 (SSEA-1), SSEA- 3 หรือ SSEA-4, Tumor Rejection Antigen-1 type 60 (TRA-1-60) และ type 81 (TRA-1-81) ซึ่งการศึกษาทำโดยการย้อมเซลล์ด้วยเทคนิค immunocytochemistry แล้วนำไปตรวจสอบด้วย Fluorescence microscopy หรือ Flow cytometry

๓) การตรวจสอบโครโมโซม

ตรวจสอบโครโมโซมผ่านกล้องจุลทรรศน์เพื่อดูว่าโครโมโซมได้มีการถูกทำลายไปหรือจำนวนโครโมโซมมีการเปลี่ยนแปลงไปหรือไม่ ซึ่งผลการตรวจสอบของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนจะต้องมีโครโมโซมปกติตลอดการเพาะเลี้ยง

๔) การตรวจสอบความสามารถเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นเซลล์ร่างกาย

ตรวจสอบคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดในการเปลี่ยนเป็นเซลล์จำเพาะในร่างกายชนิดอื่น ๆ ได้เกือบทุกชนิด ตามคุณสมบัติการเป็น Pluripotent stem cells หรือไม่ โดยในการตรวจสอบสามารถทำได้ โดยวิธีการต่าง ๆ ดังนี้

๔.๑) Spontaneous Differentiation

ปล่อยให้เซลล์ที่สนใจมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์จำเพาะชนิดต่าง ๆ ตามธรรมชาติผ่านการก่อตัวเป็น embryoid body ซึ่งการสร้าง embryoid body สามารถทำได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในห้องปฏิบัติการโดยไม่เพาะเลี้ยงร่วมกับเซลล์ที่เลี้ยง เซลล์ต้นกำเนิดจะไม่เกาะพื้นภาชนะและมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ขึ้น เซลล์จะมีลักษณะเกาะรวมตัวกันเป็นก้อนแบบ ๓ มิติ ซึ่งในขณะนั้นเซลล์ภายในก้อน embryoid body จะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์จำเพาะในเนื้อเยื่อทั้ง ๓ ชั้น

๔.๒) In vitro cell differentiation

ควบคุมเซลล์ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์จำเพาะชนิดที่ต้องการในห้องปฏิบัติการ

๔.๓) In vivo cell differentiation

ฉีดเซลล์เข้าไปในหนูทดลองชนิดที่สูญเสียภูมิคุ้มกัน (severe combined immuno deficiency mice หรือ SCID mice) เพื่อตรวจดูว่าเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนสามารถก่อตัวให้เกิดเป็นเนื้องอกชนิดไม่ร้ายแรง (Benign Tumor) ที่เรียกว่า เทอราโทมาได้หรือไม่ ซึ่งในเนื้องอกนี้จะประกอบไปด้วยกลุ่มเซลล์ในทั้ง ๓ ชั้นเนื้อเยื่อ (ectoderm, mesoderm และ endoderm) เป็นการบ่งชี้ว่าเซลล์ที่ได้นั้นเป็นเซลล์ต้นกำเนิดชนิด Pluripotent stem cells

การตรวจสอบคุณสมบัติและลักษณะจำเพาะของเซลล์ต้นกำเนิดลูกอ่อนและตัวเต็มวัย

๑) ความสามารถคงสภาพสายพันธุ์

โดยเฉพาะเลี้ยงเซลล์ (culture) และแยกเซลล์เพื่อเพิ่มปริมาณ (subculture) โดยเปลี่ยนถ่ายใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงเซลล์ใหม่เป็นระยะเวลานานเพื่อตรวจสอบว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้นี้ยังมีความสามารถในการสร้างตัวเองขึ้นมาใหม่ได้เป็นระยะเวลานาน โดยยังมีลักษณะเป็นเซลล์ที่ไม่จำเพาะอยู่

๒) การแสดงออกของโปรตีนที่จำเพาะ

เซลล์ต้นกำเนิดลูกอ่อนและตัวเต็มวัยเป็นเซลล์ที่มีศักยภาพเป็น multipotent stem cells ดังนั้นการตรวจสอบจึงตรวจหาการแสดงออกของโปรตีนที่จำเพาะของ multipotent stem cells ซึ่งได้แก่ Cluster of Differentiation (CD) ชนิดต่าง ๆ ที่จำเพาะต่อเซลล์อ่อนของเนื้อเยื่อหรืออวัยวะที่ได้เซลล์มา เช่น เซลล์ต้นกำเนิดจากน้ำคร่ำซึ่งเป็นเซลล์ต้นกำเนิดลูกอ่อน ซึ่งจะสามารถแสดงออก Octamer-binding transcription factor 4 (Oct-4 หรือ POU5F-1), CD 29, CD 44, CD 73, CD 90 และ CD 105 ได้ และไม่มีการแสดงออกของ CD 34, CD 45 และ CD 133 เซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัยจำพวก Mesenchymal stem cells ต้องสามารถแสดงแอนติเจนที่จำเพาะบนผิวเซลล์ชนิด CD 73, CD 90 และ CD 105 เซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัยชนิดเซลล์เม็ดเลือด (Hemato-poietic stem cells) ต้องสามารถแสดงแอนติเจนที่จำเพาะบนผิวเซลล์ชนิด CD 34, CD 133, CD 105 และ CD 150 ได้และต้องไม่มีการแสดงออก CD 48, CD244 เป็นต้น โดยการตรวจสอบสามารถใช้เทคนิคการย้อม immunocytochemistry และตรวจสอบด้วย Fluorescence microscopy หรือ Flow cytometry

๓) การตรวจสอบโครโมโซม

ตรวจสอบโครโมโซมผ่านกล้องจุลทรรศน์เพื่อดูว่าโครโมโซมมีการถูกทำลายหรือจำนวนโครโมโซมมีการเปลี่ยนแปลงไปหรือไม่ ซึ่งผลการตรวจสอบนั้นการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดจะต้องโครโมโซมต้องมีความปกติตลอดการเพาะเลี้ยง

๔) การตรวจสอบความสามารถเปลี่ยนแปลงพัฒนาเป็นเซลล์ร่างกาย

ตรวจสอบว่าเซลล์ที่ได้มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนเป็นเซลล์จำเพาะในร่างกายชนิดอื่น ๆ ได้หลายชนิด ตามคุณสมบัติการเป็น multipotent stem cells ด้วยการทำ *In vitro* cell differentiation โดยกระตุ้นให้เซลล์ต้นกำเนิดที่ได้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นเซลล์จำเพาะชนิดที่ต้องการ ซึ่งเซลล์จำเพาะชนิดที่เป็นที่นิยมทำการกระตุ้นให้เปลี่ยนแปลงไปเป็น คือ เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้น ectoderm ได้แก่ เซลล์ประสาท (neuron) และ เซลล์ในเนื้อเยื่อชั้น mesoderm ได้แก่ (๑) เซลล์ไขมัน (adipocyte) (๒) เซลล์กระดูกอ่อน (chondrocyte) และ (๓) เซลล์กระดูก (osteoblast)

เทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิดต่อการรักษาทางการแพทย์

ในความเป็นจริงแล้วเซลล์ต้นกำเนิดที่ทำหน้าที่สร้างเลือดจากไขกระดูก ถูกใช้ปลูกถ่ายมากกว่า ๓๐ ปี

แล้ว เซลล์ต้นกำเนิดจากเซลล์ที่เจริญวัยเต็มที่แล้วนั้นได้ถูกค้นพบเป็นครั้งแรกเมื่อ ๔๐ ปีที่แล้ว ในปี พ.ศ. ๒๕๐๓ (ค.ศ. 1960) ซึ่งค้นพบว่าไขกระดูกประกอบด้วยเซลล์ต้นกำเนิดสองชนิด กลุ่มแรก เรียกว่าเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต (Hematopoietic stem cells) ซึ่งทำหน้าที่สร้างเซลล์เม็ดเลือดทุกชนิดในร่างกาย กลุ่มที่สอง เรียกว่า เซลล์จากไขกระดูกในชั้นสโตรมาล (Bone marrow stromal cells) ซึ่งถูกค้นพบหลังจากเซลล์กลุ่มแรกประมาณ ๒-๓ ปี และเซลล์กลุ่มนี้จะทำหน้าที่สร้างกระดูก กระดูกอ่อน ไขมัน และ เนื้อเยื่อเส้นใย (Fibrous connective tissue)

ในปัจจุบันจึงมีความพยายามจะศึกษานำเซลล์ต้นกำเนิดเพื่อมาใช้ในการรักษาโรค หรือ ภาวะทุพพลภาพ โดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากอวัยวะต่าง ๆ ที่เจริญวัยเต็มที่แล้ว เช่น โลหิต ในรก/สายสะดือ ไขกระดูก และ กระแสเลือด โดยหวังจะนำมาพัฒนาให้เจริญเป็นเซลล์หลายชนิด เช่น เซลล์ตับ เซลล์กระดูก เซลล์ผิวหนัง เซลล์

ตารางเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างเซลล์ต้นกำเนิดชนิดต่าง ๆ

ลักษณะและคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิด	เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน (Embryonic stem cells)	เซลล์ต้นกำเนิดลูกอ่อน (Fetal stem cells)	เซลล์ต้นกำเนิดตัวเต็มวัย (Adult stem cells)
แหล่งที่มา	เซลล์ตัวอ่อนในระยะบลาสโตซิสต์	เซลล์ลูกอ่อนในครรภ์มารดา	เซลล์จากเนื้อเยื่อหรืออวัยวะโตเต็มวัย
ศักยภาพ (Potency)	Pluripotent	Pluripotent /Multipotent	Multipotent
คุณสมบัติ (Self-renewal)	*****	***	*
เซลล์ที่เลี้ยง (Cell proliferation)	*****	***	*
คุณสมบัติเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์ร่างกาย (differentiation)	ต้องการ	ไม่ต้องการ	ไม่ต้องการ
๑. Spontaneous differentiation	+	-	-
๒. <i>In vitro</i> cell differentiation	เจริญเป็นเนื้อเยื่อ ๓ ชั้น	เจริญเป็นเนื้อเยื่อ ๓ ชั้น	เจริญเป็นชั้น mesoderm
๓. ก่อเกิดเนื้องอก Teratoma	+	-	-
การแสดงออกของโปรตีนจำเพาะ			
๑. pluripotent marker Oct-4	+	+	-
๒. embryonic stem cell markers; SSEA, Tra-1	+	+	-
๓. mesenchymal stem cell markers	-	+	+

เม็ดเลือด จุดสำคัญที่ควรทำความเข้าใจเกี่ยวกับเซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากตัวเต็มวัยประเภทนี้ คือ ในเนื้อเยื่อหรืออวัยวะหลายชนิดในร่างกายจะมีเซลล์ต้นกำเนิดอยู่ในบางบริเวณของอวัยวะ แต่เซลล์ต้นกำเนิดเหล่านี้มีจำนวนน้อยมาก และจะคงสภาพเป็นเซลล์ที่ยังไม่มีการแบ่งตัวเป็นระยะเวลาหลายปีจนกระทั่งได้รับการกระตุ้นโดยโรคหรือการบาดเจ็บที่ส่งผลต่อเนื้อเยื่อหรือ อวัยวะส่วนนั้น ซึ่งนักวิทยาศาสตร์ได้พยายามหาวิธีเพาะเลี้ยงและควบคุมการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ต้นกำเนิดเหล่านี้ในห้องทดลอง แต่ทั้งหมดยังคงอยู่ในระหว่างการดำเนินการศึกษาวิจัย ซึ่งในปัจจุบันการทดลองพยายามพัฒนาเซลล์ต้นกำเนิดมาเพื่อทดลองใช้ในการรักษาความผิดปกติในโรคต่าง ๆ หลายโรค ได้แก่ พัฒนาเป็นเซลล์เม็ดเลือดเพื่อรักษาคณับยที่เป็นโรคเลือด^๔ เป็นเซลล์หัวใจเพื่อรักษาคณับยที่เป็นโรคหัวใจชนิดต่าง ๆ^{๕-๑๙} หรือเซลล์ประสาท เช่น เพื่อรักษาโรค Parkinson's disease^{๒๐-๒๒} และอื่น ๆ^{๔,๒๐-๒๒} และการศึกษาได้ขยายถึงการนำไปใช้ทดลองปลูกถ่ายรักษาโรคในสัตว์ทดลอง และบางส่วนเริ่มทำการศึกษานในมนุษย์บ้างแล้ว เช่น การพัฒนาเซลล์ต้นกำเนิดเป็นเซลล์ที่ผลิตโดปามีน (Dopamine-producing cells) และปลูกถ่ายลงในสมองของผู้ป่วยที่เป็นโรคพาร์กินสัน หรือ การปลูกถ่ายเซลล์ที่ผลิตอินซูลิน (Insulin-producing cells) ให้กับผู้ป่วยด้วยโรคเบาหวานชนิดที่ ๑ (Type I Diabetes) และการซ่อมแซมกล้ามเนื้อหัวใจในผู้ป่วยที่มีโอกาสเกิดอาการกล้ามเนื้อหัวใจวาย (Heart attack) ด้วยเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ (Cardiac muscle cells) ที่พัฒนาจากเซลล์ต้นกำเนิด เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามการพัฒนานำเซลล์ต้นกำเนิดมาใช้ในทางการแพทย์ยังต้องทำการศึกษาให้เข้าใจในพื้นฐานทางเทคโนโลยีเซลล์ต้นกำเนิดอย่างถ่องแท้ก่อนการนำมาใช้รักษา เช่น กระบวนการควบคุมการเปลี่ยนแปลงเซลล์ต้นกำเนิดไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ (differentiation) รวมทั้งการค้นคว้าผลิตเซลล์ต้นกำเนิดให้ได้มีความสมบูรณ์ที่สุดเพื่อนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย นักวิทยาศาสตร์และนักวิจัยทั่วโลกกำลังพยายามศึกษาวิจัยวิทยาการเซลล์ต้นกำเนิดในทุกด้านให้สามารถนำมาใช้ในทางการแพทย์ได้จริงในอนาคตอันใกล้

เอกสารอ้างอิง

1. Kiatpongsan S, Tannirandom Y, Virutamasen P. Introduction to stem cell medicine. J Med Assoc Thai. 2006; 89(1):111-7.
2. Sylvester KG, Longaker MT. Stem cells. ARCH SURG. 2004; 139: 93-99.
3. Ulloa-Montoya F, Verfaillie CM, Hu WS. Culture systems for pluripotent stem cells. J Biosci Bioeng. 2005 Jul;100(1):12-27.
4. Hubner K, Fuhrmann G, Christenson L, Kehler J, Reinbold R, De La Fuente R, et al. Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. Science. 2003; 330:1251-6.
5. Bryja V, Bonilla S, Cajanek L, Parish CL, Schwartz CM, Luo Y, et al. An efficient method for the derivation of mouse embryonic stem cells. Stem Cells. 2006 Apr;24(4):844-9.
6. Martin C, Bueno D, Alonso MI, Moro JA, Callejo S, Parada C, et al. FGF2 plays a key role in embryonic cerebrospinal fluid trophic properties over chick embryo neuroepithelial stem cells. Dev Biol. 2006 Sep 15;297(2):402-16.
7. Treloar HB, Nurcombe V, Key B. Expression of extracellular matrix molecules in the embryonic rat olfactory pathway. J Neurobiol. 1996 Sep;31(1):41-55.
8. Cross MJ, and Claesson-Welsh L. FGF and VEGF function in angiogenesis: Signalling pathways, biological responses and therapeutic inhibition. Trends Pharmacol Sci. 2001 Apr;22(4):201-7.
9. Klein S, Roghani M, Rifkin DB. Fibroblast growth factors as angiogenesis factors: new insights into their mechanism of action. In Goldberg, I.D. and Rosen, E. M., editors. Regulation of Angiogenesis, (1997) Birkhäuser Verlag, Basel
10. Zaragosi LE, Ailhaud G, Dani C. Autocrine FGF2 signaling is critical for self-renewal of human multipotent adipose-derived stem cell. Stem Cells. 2006 Nov;24(11):2412-9.
11. Chambers I, Smith A. Self-renewal of teratocarcinoma and embryonic stem cells. Oncogene. 2004;23:7150-7160.
12. Daheron L, Opitz SL, Zaehres H. LIF/STAT3 signaling fails to maintain self-renewal of human embryonic stem cells. Stem Cells. 2004; 22:770-778.
13. Dravid G, Ye Z, Hammond H, Chen G, Pyle A, Donovan P. Defining the role of Wnt/beta-catenin signaling in the survival, proliferation, and self-renewal of human embryonic stem cells. Stem Cells. 2005; 23 (10):1489-501.
14. Olsen AL, Stachura DL, Weiss MJ. Designer blood: creating hematopoietic lineages from embryonic stem cells. Blood. 2006 Feb 15;107 (4):1265-75.
15. Mendez-Ferrer S, Ellison GM, Torella D, Nadal-Ginard B. Resident progenitors and bone marrow stem cells in myocardial renewal and repair. Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2006; 3: 83-S89.
16. Janssens S, Theunissen K, Boogaerts M, de Werf FV. Bone marrow cell transfer in acute myocardial infarction. Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2006; 3 Suppl 1: 69-72.
17. Brehm M, Strauer BE. Stem cell therapy in postinfarction chronic coronary heart disease. Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2006; 3: 101-4.
18. Joseph J, Rimawi A, Mehta P, Cottler-Fox M, Sinha A, Singh BK, et al. Safety and effectiveness of granulocyte-colony stimulating factor in mobilizing stem cells and improving cytokine profile in advanced chronic heart failure. Am J Cardiol. 2006 Mar 1;97(5):681-4.
19. Grigoropoulos NF, Mathur A. Stem cells in cardiac repair. Curr Opin Pharmacol. 2006 Apr;6(2):169-75.
20. Slukvin II, Vodyanik MA, Thomson JA, Gumenyuk ME, Choi KD. Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional dendritic cells through the myeloid pathway. J Immunol. 2006 Mar 1;176(5):2924-32.

21. Cho YH, Kim DS, Kim PG, Hwang YS, Cho MS, Moon SY, et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells efficiently induce behavioral recovery in a Parkinsonian rat model. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006 Mar 3;341(1):6-12.
22. Kimura H, Yoshikawa M, Matsuda R, Toriumi H, Nishimura F, Hirabayashi H, Nakase H, Kawaguchi S, Ishizaka S, Sakaki T. Transplantation of embryonic stem cell-derived neural stem cells for spinal cord injury in adult mice. *Neurol Res*. 2005 Dec;27(8):812-9.
23. Arufe MC, Lu M, Kubo A, Keller G, Davies TF, Lin RY. Directed differentiation of mouse embryonic stem cells into thyroid follicular cells. *Endocrinology*. 2006 Jun;147(6):3007-15

