

## Abstract

**Background:** Stem cells have been paid attention and studied vigorously in the past few decades due to the promising application in the medical fields. Not only for the treatment of diseases, but also for the well beings of human kind. Many researchers have been trying different methods for obtaining stem cells. However, several studies have failed during application step due to the growth of a tumor after stem cells transplantation. There are many successful methods for getting stem cells or stem cell like cells; direct isolation from tissue, direct isolation from blood or fluids, iPS cells, small molecules induced stem cells. But, none have used organ-organ stimulation in the induction of a specific stem cell lineage.

**Objective:** To induce a lineage specific hepatic stem cell using isolated embryonic hearts.

**Material and Method:** Previous studies have shown that hepatic stem cells were induced by signals from the cells of the septum transversum, which attached to the developing heart. We wanted to try using the isolated early embryonic heart as the inducer during hepatic stem cell induction *in vitro*. The embryonic stem cells were cultured through confluence. After observing several colonies formations, we put freshly isolated chicken embryonic hearts onto the colonies. After, at least, four days, we started looking for hepatic plate-like formations and characterized those cells.

**Results:** After several trials, we found that the chicken embryonic hearts, on day 4, 5, 6 or 7, but not on day 8 or 9, could actually induce a hepatic cell fate for the mouse embryonic stem cells. We were able to show specific marker for early hepatic lineage such as the production of Albumin, AFP. When these cells were tested for a hepatocyte function, we found glycogen formation inside the cells as well.

**Conclusion:** We, therefore can be confident that isolated early embryonic chicken hearts are acceptable for inducing embryonic stem cells into the hepatic stem cell lineage.

**Keywords:**..... Mouse embryonic stem cells, Hepatic stem cells, Heart tissue, Early chicken embryo.

## บทคัดย่อ

**ภูมิหลัง** เซลล์ต้นกำเนิดได้รับความสนใจและศึกษากันอย่างจริงจังในช่วงสองสามทศวรรษที่ผ่านมา อันเนื่องมาจากความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ได้ ไม่เพียงแต่เพื่อการรักษาแต่ยังสามารถนำไปใช้เพื่อสุขภาพที่ดีของคนเรา มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านใช้หลากหลายวิธีเพื่อให้ได้มาซึ่งเซลล์ต้นกำเนิด แต่ผลอันไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นมาก็คือ การเกิดมะเร็งหลังการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิด มีหลากหลายวิธีที่ทำให้ได้มาซึ่งเซลล์ต้นกำเนิด การแยกเอาเซลล์โดยตรงจากเนื้อเยื่อ การแยกเอาจากเลือดหรือน้ำในช่องต่าง ๆ ของร่างกาย ไอทีเอสเซลล์ (iPS) การใช้สารโมเลกุลเล็ก ๆ กระตุ้นให้เกิดเซลล์ต้นกำเนิด แต่ยังไม่เคยมีใครคิดใช้อวัยวะจริง ๆ ลองทำการเหนี่ยวนำ

**วัตถุประสงค์** การวิจัยนี้จึงอยากทำการเลียนแบบธรรมชาติโดยการใช้หัวใจระยะเอ็มบริโอในการเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดสายพันธุ์ดับ

### วัสดุและวิธีการศึกษา

จากการศึกษาก่อนหน้านี้เราทราบกันแล้วว่าเซลล์ต้นกำเนิดดัดนั้นจะถูกกระตุ้นจากส่วนที่เรียกว่า เซ็บคัมทรานซเวอรัซ ซึ่งเป็บริเวณที่ต่ออยู่กับหัวใจที่กำลังเจริญ เราพยายามที่จะใช้เนื้อเยื่อหัวใจนี้มาเหนี่ยวนำให้เกิดเซลล์ต้นกำเนิดสายพันธุ์ดับในหลอดทดลอง เซลล์ต้นกำเนิดหนูได้รับการเพาะเลี้ยงจนได้จำนวนพอเหมาะ คือเมื่อสังเกตเห็นโคโลนีของกลุ่มเซลล์ต้นกำเนิด เราก็ใส่เนื้อเยื่อหัวใจที่แยกจากเอ็มบริโอใหม่ ๆ ลงบนเซลล์ต้นกำเนิดเหล่านั้น หลังจากนั้นอย่างน้อย 4 วัน เราก็จะมองหาลักษณะจำเพาะของเซลล์ต้นกำเนิดสายพันธุ์ดับที่เรียงเป็นดับแล้วทำการตรวจสอบคุณสมบัติที่จำเพาะต่อไป

### ผลการศึกษา

จากการทดสอบหลายรอบ พบว่าหัวใจของเอ็มบริโอไก่อายุ สี่ ห้า หกหรือเจ็ดวัน แต่ไม่ใช่อายุ แปดหรือเก้าวันที่จะสามารถเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดหนูให้เป็นเซลล์ต้นกำเนิดสายพันธุ์ดับได้ทุกครั้งที่ทดสอบ โดยเราสามารถพบสารบ่งชี้การจำเพาะของเซลล์ดับได้แก่ อัลบูมิน และอัลคาลายน์ฟอสฟาเตส เป็นต้น และเมื่อทิ้งไว้นานพอก็พบว่าเซลล์เหล่านั้นสามารถทำงานคล้ายเป็นเซลล์ดับ เช่น มีการสะสมไกลโคเจนได้

### สรุป

เราค่อนข้างมั่นใจว่า หัวใจไกระยะเอ็มบริโอช่วงต้นสามารถกระตุ้นและเหนี่ยวนำเซลล์ต้นกำเนิดให้เป็นเซลล์ต้นกำเนิดสายพันธุ์ดับได้

**คำสำคัญ**.....เซลล์ต้นกำเนิดหนู เซลล์ต้นกำเนิดสายพันธุ์ดับ เนื้อเยื่อหัวใจ เอ็มบริโอไก่