เซลล์ต้นกำเนิด

จากห้องปฏิบัติการสู่การใช้ประโยชน์ทางคลินิก

เซลล์ต้นกำเนิด

จากห้องปฏิบัติการสู่การใช้ประโยชน์ทางคลินิก

CRC DMSc
CLINICAL RESEARCH CENTER
DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ศูนย์วิจัยทางคลินิก
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข

เซลล์ต้นกำเนิด
จากห้องปฏิบัติการสู่การใช้ประโยชน์ทางคลินิก

บรรณาธิการ สมชาย แสงกิจพร
สิริภากร แสงกิจพร

จัดพิมพ์ ศูนย์วิจัยทางคลินิก
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข
ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000
โทรศัพท์ 0 2589 9850-8 ต่อ 99394
โฮมเพจ http://www.crcdmsc.com

พิมพ์ครั้งแรก ธันวาคม 2551
พิมพ์ครั้งที่ 2 กรกฎาคม 2552
จำนวน 1,000 เล่ม

Art_ok.pmd 2 8/6/2555, 23:15

บทนำ

ปัจจุบันการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ต้นกำเนิด นับเป็นหนึ่งในสาขาที่มีความก้าวหน้าที่สุดทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ เซลล์ต้นกำเนิดที่มีการศึกษามากที่สุดมี 2 ประเภท คือ เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน (Embryonic Stem Cell) และ เซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกายที่เจริญเติบโตเต็มที่ (Adult Stem Cell) การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน มักจะมีปัญหาด้านจริยธรรมเข้ามาเกี่ยวข้อง นักวิทยาศาสตร์จึงหันมาให้ความสนใจศึกษาเซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกายที่เจริญเติบโตเต็มที่กันมากขึ้น อย่างไรก็ตาม การค้นพบวิธีการใหม่ในการเหนี่ยวนำให้เกิด Pluripotent Stem Cell โดยวิธีทางพันธุวิศวกรรม (Induced Pluripotent Stem Cell หรือ iPSC) ทำให้นักวิจัยสามารถพัฒนาเซลล์ต้นกำเนิดที่มีคุณสมบัติคล้ายเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน อาจเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญที่ทำให้งานวิจัยด้านเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนดำเนินต่อไปได้ โดยไม่มีข้อโต้แย้งทางจริยธรรม สำหรับการรักษาผู้ป่วยโดยใช้เซลล์ต้นกำเนิด ที่ถือเป็นการรักษามาตรฐาน ทางการแพทย์ในปัจจุบันมีเพียงลักษณะเดียว คือการปลูกถ่ายไขกระดูกหรือการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต สำหรับใช้ในการรักษาโรคที่มีสาเหตุจาก การสร้างเม็ดโลหิตที่ไขกระดูกลดลงหรือผิดปกติ ส่วนการรักษาโดยวิธีอื่นๆ ล้วนยังอยู่ในขั้นตอนการศึกษาวิจัยทั้งสิ้น การศึกษาที่มีแนวโน้มว่าสามารถพัฒนาไปใช้เป็นการรักษามาตรฐานได้มีด้วยกัน 3 โรค คือ โรคหัวใจ โรคกระจกตา และโรคกระดูกและข้อ

หนังสือเล่มนี้จัดทำขึ้นจากการทบทวนวรรณกรรม ที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยและการดำเนินงานตามข้อกำหนดสากล เพื่อให้การใช้ประโยชน์จากเซลล์ต้นกำเนิดเป็นไปอย่างเหมาะสม ผู้เขียนหวังเป็นอย่างยิ่งว่าองค์ความรู้ในหนังสือเล่มนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับทุกท่านที่สนใจ หากมีข้อบกพร่องประการใดผู้เขียนขอรับข้อเสนอแนะไว้ด้วยความขอบคุณ เพื่อนำไปปรับปรุงให้เหมาะสมยิ่งขึ้นไป

สมชาย แสงกิจพร
สิริภากร แสงกิจพร
3 ธันวาคม 2551

Art_ok.pmd 3 8/6/2555, 23:15

Art_ok.pmd 4 8/6/2555, 23:15

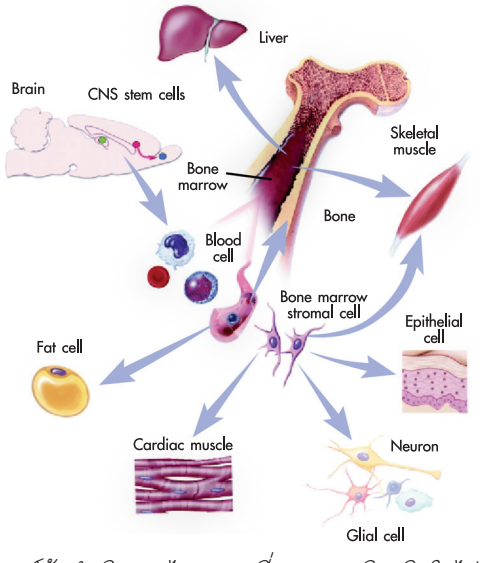
สารบัญ

บทนำ	6
ประเภทของเซลล์ต้นกำเนิด	7
เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน (Embryonic Stem Cell: ESC)	8
เซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกายที่เจริญเติบโตเต็มที่ (Adult Stem Cell)	12
การรักษาผู้ป่วยโดยใช้เซลล์ต้นกำเนิด	13
แนวทางในการศึกษาวิจัยด้านเซลล์ต้นกำเนิด	14
โรคหัวใจ	14
โรคกระจกตา	16
โรคของกระดูกอ่อน	17
ข้อกำหนดที่เกี่ยวข้องในการเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดทางห้องปฏิบัติการ	18
Good Manufacturing Practice (GMP)	20
Good Tissue Practices (GTP)	21
บทสรุป	22
เอกสารอ้างอิง	24

Art_ok.pmd 5 8/6/2555, 23:15

บทนำ

จากความสำเร็จในการรักษาผู้ป่วยรายแรกของโลก โดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกในปี 1968 [1] นับเป็นจุดเริ่มต้นที่ทำให้นักวิจัยจำนวนมากมีความสนใจในการศึกษาวิจัยด้านเซลล์ต้นกำเนิด เซลล์ต้นกำเนิดเป็นเซลล์ที่มีลักษณะเฉพาะ คือ มีความสามารถในการสร้างเซลล์ทดแทนตนเอง โดยคงสภาพความเป็นเซลล์ต้นกำเนิด (Self-Renewal) และมีศักยภาพในการพัฒนาไปเป็นเซลล์จำเพาะชนิดต่างๆ ได้ในสภาวะที่เหมาะสม (Plasticity หรือ Trans-Differentiation) เช่น เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกเจริญไปเป็นเซลล์กล้ามเนื้อ, เซลล์ผิวหนัง, เซลล์ไขมัน, เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ และเซลล์ประสาท ในขณะที่เซลล์ต้นกำเนิดของระบบประสาทสามารถเจริญไปเป็นเซลล์ตับ, เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ และ เซลล์ในระบบโลหิต การศึกษาเหล่านี้ นำไปสู่ความหวังที่จะนำเซลล์ต้นกำเนิดมาใช้ประโยชน์ในการรักษาและ/หรือซ่อมแซมอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย ที่ผิดปกติจากการเป็นโรค ความเสื่อม ความสูงอายุ และจากสาเหตุอื่นๆ ทำให้เกิดศาสตร์สาขาใหม่ที่เรียกว่า เวชศาสตร์การฟื้นฟูสภาวะเสื่อม หรือ Regenerative Medicine[2, 3]

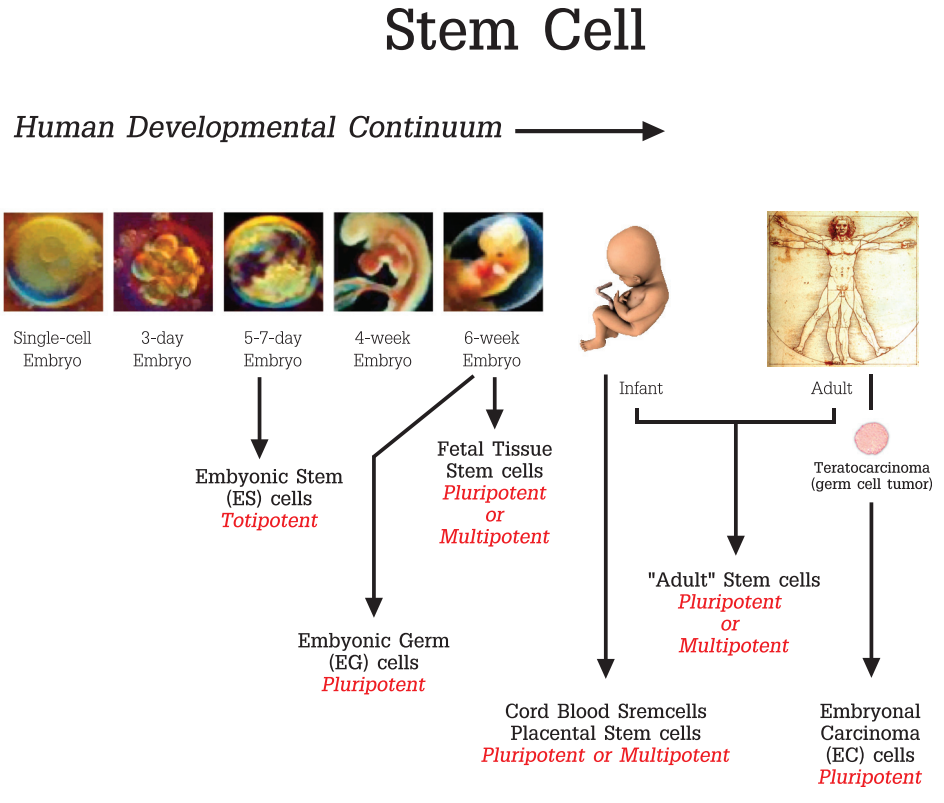


ภาพที่ 1 ศักยภาพของเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกที่สามารถเจริญเติบโตไปเป็น เซลล์ต่างๆ ได้หลายชนิด ทั้งเซลล์ในระบบเลือดและนอกเหนือจากระบบเลือด เช่น เซลล์กล้ามเนื้อ, เซลล์ผิวหนัง, เซลล์ประสาท, เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ และเซลล์ไขมัน[3]

Art_ok.pmd 6 8/6/2555, 23:15

ประเภทของเซลล์ต้นกำเนิด

เซลล์ต้นกำเนิดแบ่งได้หลายประเภทตามระยะเวลาในการพัฒนาการ นับตั้งแต่ Embryonic Stem Cell เป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากตัวอ่อนระยะแรก, Fetal Stem Cell เป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากทารกในครรภ์มารดา, Infant Stem Cell เป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากทารกแรกคลอด ส่วน Adult Stem Cell เป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่ได้จากร่างกายของสัตว์หรือมนุษย์ที่เจริญเติบโตเต็มที่ พบได้ในเนื้อเยื่อหลายชนิด ทั้งเนื้อเยื่อที่มีการสร้างเซลล์ทดแทนอย่างรวดเร็วตลอดเวลา เช่น ไขกระดูก ผิวหนัง และเยื่อบุทางเดินอาหาร ตลอดจนอวัยวะที่แต่เดิมเชื่อว่าไม่มีเซลล์ต้นกำเนิดอยู่ เช่น สมองและหัวใจ[2-6]

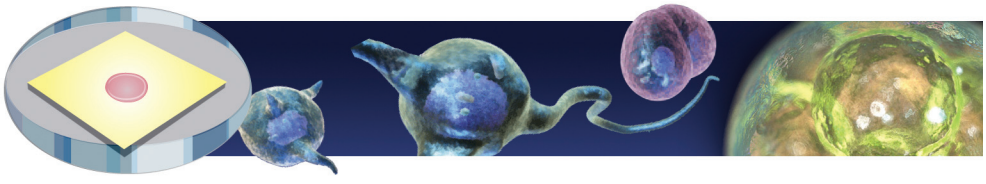


ภาพที่ 2 ประเภทของเซลล์ต้นกำเนิดจำแนกตามระยะเวลาในการพัฒนาการ[4]

Art_ok.pmd 7 8/6/2555, 23:15

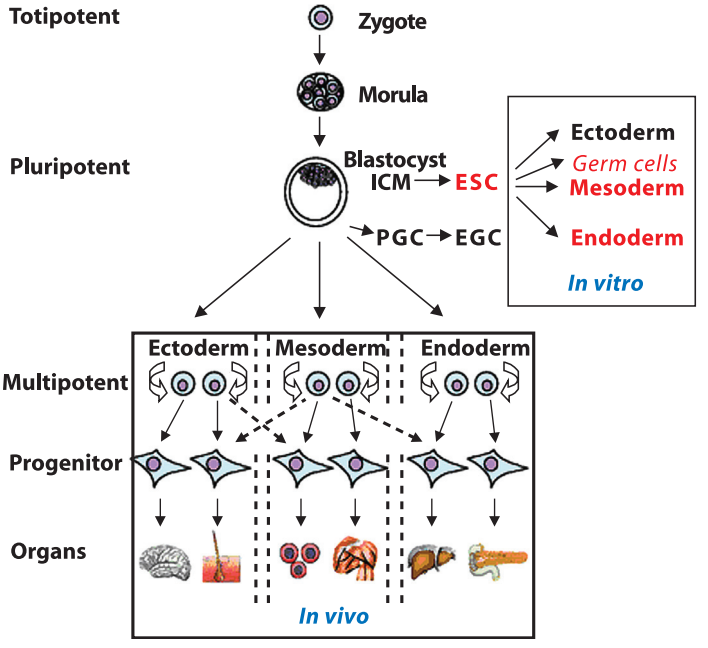
เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน (Embryonic Stem Cell: ESC)

เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนพัฒนามาจากตัวอ่อนในระยะ Embryo ก่อนฝังตัวอยู่ในมดลูก โดยปกติภายหลังการปฏิสนธิ ไข่ที่ได้รับการผสมจะแบ่งตัวจนกระทั่งได้เป็น 16 เซลล์ เรียกกลุ่มเซลล์ในระยะนี้ว่า Morula เซลล์เหล่านี้มีคุณสมบัติเหมือนกันทุกเซลล์ สามารถเจริญเติบโตไปเป็นเซลล์ได้ทุกชนิดในร่างกาย และสามารถแบ่งเซลล์ได้โดยไม่มีขีดจำกัด เซลล์ต้นกำเนิดที่มีคุณสมบัติแบบนี้ถือว่าเป็น Totipotent Stem Cell จากนั้นประมาณวันที่ 5 - 7 หลังการปฏิสนธิ ตัวอ่อนจะเจริญเติบโตมากขึ้นจนถึงระดับ Blastocyst กลุ่มเซลล์ที่อยู่ชั้นนอก คือ Trophoblast จะเจริญไปเป็นเนื้อเยื่อรก ส่วนกลุ่มเซลล์ที่อยู่ภายในเรียกว่า Inner Cell Mass (ICM) สามารถแบ่งเซลล์ได้โดยไม่จำกัด และเจริญพัฒนาไปเป็นเซลล์ชนิดใดก็ได้ในร่างกายของมนุษย์ แต่ไม่สามารถเจริญเป็นเซลล์เนื้อเยื่อรก เซลล์ต้นกำเนิดที่มีคุณสมบัติแบบนี้ถือว่าเป็น Pluripotent Stem Cell [7-9]



Inner Cell Mass จึงเป็นเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนที่มีคุณสมบัติเป็น Pluripotent Stem Cell สามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้ โดยไม่เปลี่ยนแปลงชนิดของเซลล์ และในขณะเดียวกันก็สามารถพัฒนาไปเป็นเซลล์ของเนื้อเยื่อ Embryo ทั้ง 3 ชั้นได้ โดยชั้นนอก (Ectoderm) พัฒนาไปเป็นสมอง ไขสันหลัง เซลล์ประสาท ขน ผม ผิวหนัง ฟัน และเซลล์รับสัมผัส ชั้นกลาง (Mesoderm) พัฒนาไปเป็นกล้ามเนื้อ เม็ดเลือด หลอดเลือด เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และหัวใจ ส่วนชั้นใน (Endoderm) พัฒนาไปเป็นอวัยวะในช่องท้อง ตับอ่อน ตับ กระเพาะอาหาร กระเพาะปัสสาวะ และเซลล์สืบพันธ์ [7-9]

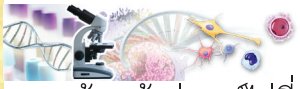
Art_ok.pmd 8 8/6/2555, 23:15



ภาพที่ 3 การพัฒนา Totipotent Stem Cell ไปเป็น Pluripotent Embryonic Stem Cell, Multipotent Stem Cell, Progenitor Cell และเซลล์จำเพาะต่างๆ ในชั้น Ectoderm, Mesoderm และ Endoderm [7]

การสร้างเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนสามารถทำได้หลายวิธี [8-9] นับตั้งแต่วิธีการดั้งเดิม (Classical Embryonic Stem Cell) เป็นการแยก Inner Cell Mass ออกจากตัวอ่อนในระยะ Blastocyst ที่มีอายุระหว่าง 5 - 7 วัน นำมาเพาะเลี้ยงร่วมกับเซลล์พี่เลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนตามที่ต้องการ นับเป็นวิธีการแรกในการสร้างเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน จากนั้นได้มีการพัฒนาวิธีการสร้างจาก Blastomere จำนวน 1 เซลล์ (Embryonic Stem Cell from Single Blastomere) โดยการตัดเซลล์ Blastomere ออกจากตัวอ่อนในระยะ 8 เซลล์ ออกมา 1 เซลล์เพื่อนำไปเพาะเลี้ยง ส่วนตัวอ่อนที่เหลือยังคงสามารถฝังตัวและเจริญต่อไปได้ วิธีนี้ถึงแม้จะไม่มีการทำลายตัวอ่อนแต่นับว่ามีความเสี่ยงสูงที่ตัวอ่อนจะได้รับอันตราย ปัจจุบันมีเพียงการศึกษาในสัตว์ทดลองเท่านั้น ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมจนมั่นใจก่อนที่จะนำมาใช้ในตัวอ่อนของมนุษย์ นอกจากนั้นยังมีการสร้างเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน โดยการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียส ระหว่างเซลล์ (Nuclear Transfer) เป็นการแยกนิวเคลียสของเซลล์ร่างกายที่เจริญเต็มที่แล้วออกมา

Art_ok.pmd 9 8/6/2555, 23:15



และย้ายเข้าสู่เซลล์ไข่ที่เอานิวเคลียสเดิมออก นำไปเพาะเลี้ยงจนเป็นตัวอ่อนระยะ Blastocyst จากนั้นจึงเตรียมเป็นเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนเช่นเดียวกับวิธีการดั้งเดิม

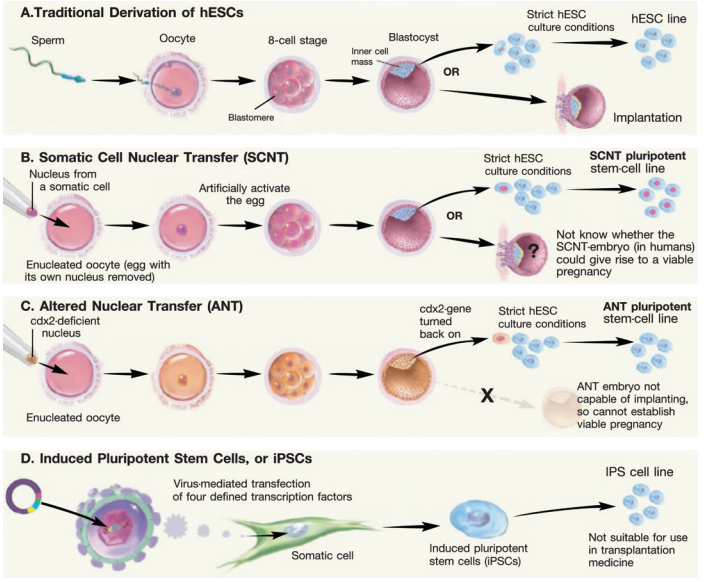
นอกจากนั้นยังมีรายงานการสร้างเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนโดยการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์ที่ได้รับการดัดแปลง (Altered Nuclear Transfer) เป็นการดัดแปลงนิวเคลียสของเซลล์ร่างกายก่อนนำมาใช้ โดยระงับการทำงานของยีน cdx2 ซึ่งมีความสำคัญในการฝังตัวของตัวอ่อน ทำให้ตัวอ่อนไม่สามารถฝังตัวภายในโพรงมดลูกและเจริญเป็นทารกต่อไปได้ วิธีการนี้พัฒนาขึ้นเพื่อหลีกเลี่ยงการทำลายตัวอ่อนที่สามารถเจริญเติบโตต่อไป แต่ได้รับการโต้แย้งในประเด็นทางจริยธรรม รวมถึงผลกระทบต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้นจากการระงับการทำงานของยีนดังกล่าว

ทุกวิธีที่กล่าวมาแล้วล้วนแต่เกี่ยวข้องกับการทำลายหรือทำอันตรายตัวอ่อนทั้งสิ้น จนกระทั่งในปี ค.ศ.2006 มีรายงานวิธีการใหม่ที่สามารถสร้างเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนได้ โดยไม่มีการทำลายตัวอ่อน แต่อาศัยการเหนี่ยวนำให้เกิด Pluripotent Stem Cell โดยวิธีทางพันธุวิศวกรรม (Induced Pluripotent Stem Cell หรือ iPSC) [10-12] เป็นการสร้าง Pluripotent Stem Cell จากเซลล์ที่เจริญเติบโตเต็มที่ เช่น เซลล์ Fibroblast โดยอาศัยการสอดใส่ยีนที่เชื่อว่ามีความสำคัญในการเหนี่ยวนำเซลล์ที่เจริญเต็มที่แล้ว ให้กลับไปเป็น Pluripotent Stem Cell ได้อีกครั้ง เช่น Oct4, SOX 2, NANOG และ LIN28 [12] เข้าไปในเซลล์ Fibroblast จากนั้นจึงนำไปเพาะเลี้ยงในห้องทดลอง ผลการศึกษาพบว่า iPSC มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนหลายประการ อาทิเช่น การแสดงออกของยีนและโปรตีนผิวเซลล์ที่เป็นคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน, ระยะเวลาในการเพิ่มจำนวน, รูปแบบของ Chromatin Methylation, การเกิด Embryoid body, การเกิด Teratoma ตลอดจนความสามารถในการพัฒนาไปเป็นเซลล์จำเพาะชนิดต่างๆ [10-12]

iPSC ได้รับการพัฒนาขึ้นครั้งแรกในเซลล์ Fibroblast ของหนูในปี ค.ศ. 2006 โดยนักวิจัยชาวญี่ปุ่น ชื่อ Shinya Yamanaka และคณะ[11] และในปี ค.ศ.2007 นักวิจัยจากสหรัฐอเมริกา ชื่อ James Thompson และคณะ [12] ได้รายงานการพัฒนา Induced Pluripotent Stem Cell ในเซลล์มนุษย์ เชื่อกันว่าการศึกษาดังกล่าวนับเป็นจุดเริ่มต้น

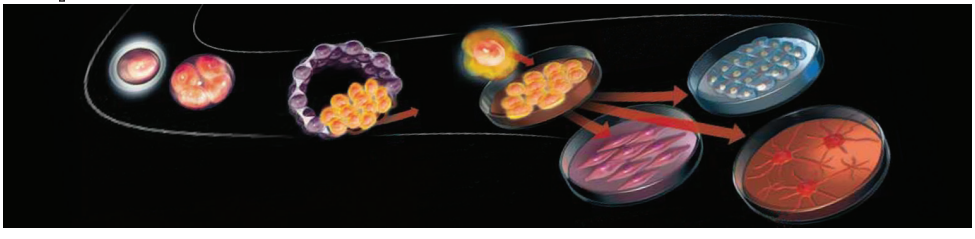
Art_ok.pmd 10 8/6/2555, 23:15

ที่สำคัญที่ทำให้การพัฒนางานวิจัยด้านเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน ดำเนินต่อไปได้โดยไม่มีข้อโต้แย้งทางจริยธรรม



ภาพที่ 4 สรุปวิธีการเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดโดยวิธีดั้งเดิม (A) วิธีย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์ (G) วิธีย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์ที่ได้รับการดัดแปลง (I) และวิธีเหนี่ยวนำให้เกิด Pluripotent Stem Cell (K) [3]

เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนถึงแม้จะมีศักยภาพที่สูงกว่า เซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกายที่เจริญเติบโตเต็มที่ (Adult Stem Cell) แต่ยังมีข้อจำกัดหลายประการ อาทิเช่น ปัญหาทางด้านจริยธรรม ในกรณีที่มีการทำลายตัวอ่อน ข้อจำกัดในการรวมตัวของเซลล์ต้นกำเนิดและเนื้อเยื่อที่ปลูกถ่ายกับเซลล์และเนื้อเยื่อดั้งเดิม การควบคุมการทำงานในระยะยาว ความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง และปฏิกิริยาภูมิต้านทาน เนื่องจากในกระบวนการเลี้ยงเซลล์อาจมีการใช้เซลล์ของสัตว์เป็นเซลล์พี่เลี้ยง การใช้เซลล์ของสัตว์นอกจากจะมีผลต่อปฏิกิริยาทางภูมิต้านทานแล้ว ยังมีโอกาสปนเปื้อนเซลล์ และโรคจากสัตว์ได้ [13]

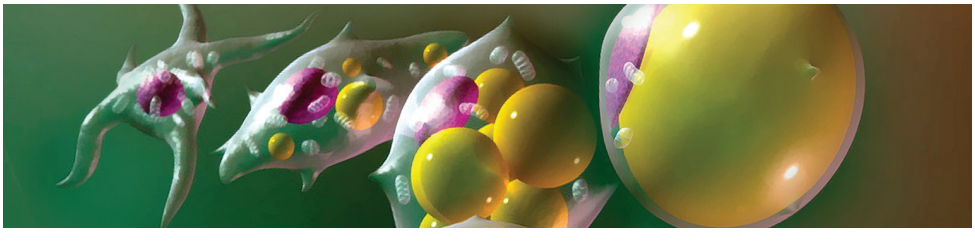


Art_ok.pmd 11 8/6/2555, 23:15

เซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกาย ที่เจริญเติบโตเต็มที่ (Adult Stem Cell)

เซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกายที่เจริญเติบโตเต็มที่ เป็นเซลล์ต้นกำเนิดที่พบได้ในระบบเลือด ผิวหนัง ไขมัน กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อสมอง ตับ ลำไส้เล็ก ไขกระดูก ตา และอวัยวะหรือเนื้อเยื่ออื่นๆ ของสัตว์หรือมนุษย์ที่เจริญเติบโตเต็มที่ เซลล์ต้นกำเนิดกลุ่มนี้ยังไม่ได้พัฒนาไปเป็นเซลล์เฉพาะทาง (Undifferentiated Cell) จึงสามารถแบ่งตัวทดแทนเซลล์ที่ตายหรือถูกทำลายไป และในขณะเดียวกันก็สามารถพัฒนาไปเป็นเซลล์ตั้งต้นเฉพาะสาย (Progenitor Cell) ก่อนที่จะเจริญเป็นเซลล์จำเพาะซึ่งเป็นเซลล์ปลายทางที่เติบโตเต็มที่ (Terminally Differentiated Cell) [3, 5, 6]

เซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกายที่เจริญเติบโตเต็มที่ถึงแม้ว่าจะสามารถเพิ่มจำนวนและพัฒนาไปเป็นเซลล์หรือเนื้อเยื่ออื่นได้หลายชนิด ตลอดจนไม่มีปัญหาทางด้านจริยธรรมเข้ามาเกี่ยวข้อง แต่ก็มีข้อจำกัดหลายประการ อาทิเช่น ในด้านการเก็บเซลล์ต้นกำเนิดจำนวนเซลล์ที่ได้อาจไม่มากพอ และการเก็บเซลล์จากเนื้อเยื่อหรืออวัยวะอื่นๆ ที่ไม่ใช่ไขกระดูก และกระแสโลหิต อาจก่อให้เกิดอันตราย นอกจากนั้นยังมีปัญหาจากปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันต่อเซลล์แปลกปลอมของร่างกาย เมื่อนำไปปลูกถ่ายให้แก่ผู้อื่น รวมถึงคุณภาพของเซลล์ต้นกำเนิดที่เสื่อมลงตามวัย [13] อย่างไรก็ตาม เซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกายที่เจริญเติบโตเต็มที่ก็มีการใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตจากไขกระดูก สำหรับรักษาผู้ป่วยทางโลหิตวิทยา

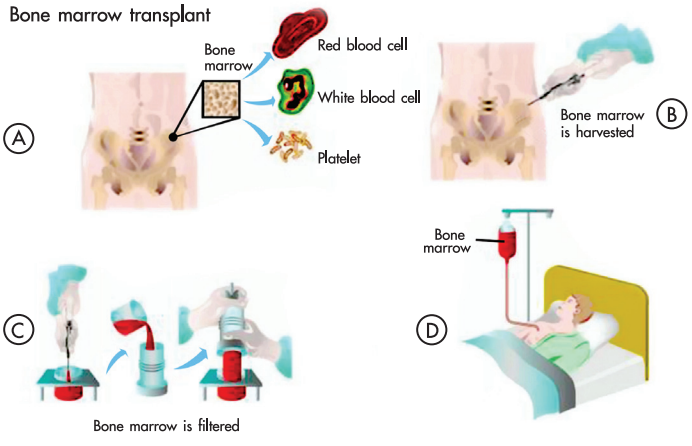


Art_ok.pmd 12 8/6/2555, 23:15

การรักษาผู้ป่วยโดยใช้เซลล์ต้นกำเนิด

การรักษาผู้ป่วยโดยใช้เซลล์ต้นกำเนิด ที่ถือเป็นการรักษามาตรฐานทางการแพทย์ในปัจจุบันมีเพียงลักษณะเดียว คือ การปลูกถ่ายไขกระดูก หรือการปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต ซึ่งส่วนใหญ่ใช้ในการรักษาโรคที่เกิดจากการสร้างเม็ดโลหิตที่ไขกระดูกลดลงหรือผิดปกติ เช่น โรคโลหิตจางธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โรคไขกระดูกฝ่อ โรคมะเร็งเม็ดโลหิตขาวทั้งชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง โรคบกพร่องทางภูมิคุ้มกันชนิดต่างๆ ตลอดจนโรคมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งต่อมน้ำเหลือง [1, 14]

ในการปลูกถ่ายไขกระดูก ผู้ป่วยจะต้องมีผู้ให้เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต ซึ่งมีลักษณะทางพันธุกรรม (Human Leukocyte Antigen: HLA) ที่เข้ากันได้กับผู้ป่วย ผู้ป่วยจะได้รับยาเคมีบำบัดขนาดสูงร่วมกับการฉายรังสี เพื่อทำลายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตของผู้ป่วย จากนั้นจึงนำเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตจากผู้ให้มาให้แก่ผู้ป่วยทางเส้นเลือดดำใหญ่ ภายหลังการปลูกถ่ายไขกระดูกผู้ป่วยจะมีภูมิต้านทานต่ำมาก ต้องอยู่ในห้องแยกเพื่อป้องกันการติดเชื้อ เนื่องจากปริมาณเม็ดโลหิตขาวลดลง ผู้ป่วยจะได้รับยากดภูมิคุ้มกันเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างเซลล์ของผู้ให้ต่อผู้รับ ซึ่งอาจเป็นอันตรายถึงแก่ชีวิต เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตที่ให้เข้าไปใหม่จะใช้เวลาประมาณ 2 - 3 สัปดาห์ในการเจริญแบ่งตัวเป็นเซลล์เม็ดโลหิตที่ปกติต่อไป [14]



ภาพที่ 5 ขั้นตอนการรักษาผู้ป่วยโดยการปลูกถ่ายไขกระดูกซึ่งเป็นแหล่งของเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตชนิดต่างๆ ทั้งเม็ดโลหิตแดง เม็ดโลหิตขาว และเกร็ดเลือด (A) แพทย์จะทำการเก็บไขกระดูก (B) นำไขกระดูกไปกรอง (C) ก่อนที่จะนำไปรักษาผู้ป่วย (D) [14]

Art_ok.pmd 13 8/6/2555, 23:15

แนวทางในการศึกษาวิจัยด้านเซลล์ต้นกำเนิด

แนวทางในการศึกษาวิจัยเพื่อนำเซลล์ต้นกำเนิดมาใช้ในการรักษาพยาบาลมี 2 ลักษณะ คือ การรักษาโดยใช้เซลล์ (Cell Therapy) ซึ่งอาศัยคุณสมบัติที่เซลล์ต้นกำเนิดสามารถเพิ่มจำนวน และพัฒนาไปเป็นเซลล์หรือเนื้อเยื่อของอวัยวะอื่นที่ไม่ใช่เซลล์ของอวัยวะดั้งเดิม เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมและสิ่งกระตุ้นที่เหมาะสม ในขณะเดียวกันก็มีนักวิจัยจำนวนมากที่สนใจนำเซลล์ต้นกำเนิดมาใช้ประโยชน์ทางด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue Engineering) ซึ่งอาศัยการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดบนโครงร่าง (Scaffold) ที่ต้องการเพื่อให้เซลล์เกาะยึดและเจริญเติบโตไปตามรูปร่างของโครงร่าง จากนั้นจึงนำเนื้อเยื่อที่ได้ไปใช้ในการรักษาผู้ป่วย[2,5] อย่างไรก็ตามโครงร่างที่นำมาใช้จะต้องสลายได้ทางชีวภาพ, เกาะยึดได้ โดยไม่เป็นพิษต่อเซลล์, เข้ากับร่างกายได้ และไม่เป็นตัวกระตุ้นทางภูมิคุ้มกันเพื่อความปลอดภัยของผู้ป่วย

โรคหัวใจ

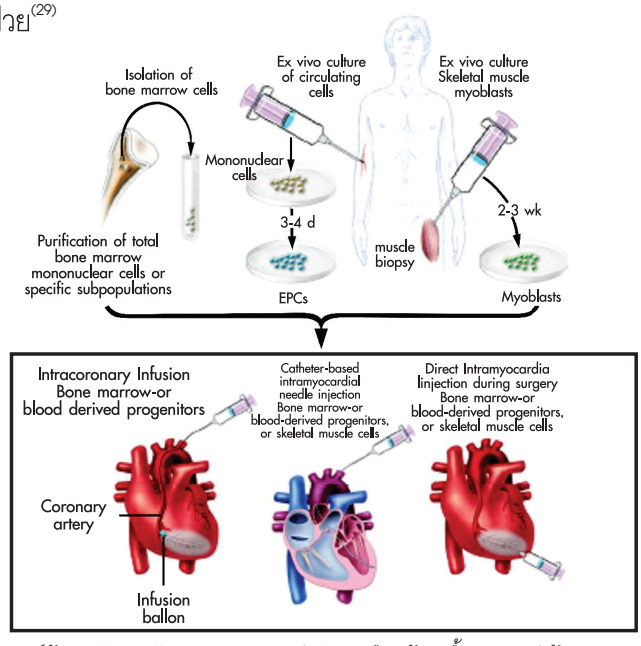
สำหรับการรักษาผู้ป่วยโรคหัวใจ โดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูก Strauer และคณะ[15] เป็นนักวิจัยกลุ่มแรกที่รายงานความปลอดภัยในการรักษาผู้ป่วย Acute Myocardial Infarction โดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกของผู้ป่วยเองนำมาเตรียม เป็น Mononuclear Cell และเพาะเลี้ยงระยะสั้นในห้องทดลองในปี ค.ศ.2002 จากนั้นได้มีรายงานเป็นจำนวนมากที่ศึกษาทั้งประสิทธิผล และความปลอดภัยในการรักษาผู้ป่วย จนเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่าการรักษาผู้ป่วยโรคหัวใจโดยใช้ เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกมีความปลอดภัย[15-22] ส่วนประสิทธิผลการรักษายังคงมีความขัดแย้งกันอยู่ ทั้งนี้อาจเกิดจากความแตกต่างในการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการคัดเลือกผู้ป่วย, วิธีการเตรียมเซลล์, จำนวนเซลล์ที่ให้แก่ผู้ป่วย, วิธีการฉีดเซลล์ และระยะเวลา ที่เหมาะสมในการฉีดเซลล์[16, 22] อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในผู้ป่วยกลุ่มใหญ่ที่สุดใน โครงการ REPAIR-AMI ได้แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่ดีในการพัฒนาคุณภาพชีวิตของผู้ป่วย[17-19] ส่วนกลไกการรักษายังไม่สามารถสรุปได้ชัดเจนนัก ถึงแม้ว่าจะมีผลการศึกษาในห้องทดลองและในสัตว์ทดลองยืนยันว่าเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูก สามารถเจริญไปเป็นเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจและหลอดเลือดได้[23-25] แต่ยังไม่มีหลักฐานใด ยืนยันการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในผู้ป่วย อาจเป็นไปได้ว่าเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกหลั่งสารเคมีในกลุ่ม Growth Factors และ Cytokines[26] ที่ช่วยให้เซลล์

Art_ok.pmd 14 8/6/2555, 23:15

กล้ามเนื้อหัวใจ ที่ยังคงเหลืออยู่จากการถูกทำลาย มีความแข็งแรงขึ้นภายหลังเกิดความผิดปกติ และช่วยอำนวยความสะดวกให้ Cardiac Stem Cell ที่ยังคงมีอยู่[27] สามารถซ่อมแซมความเสียหายที่เกิดขึ้นได้[18-22]

จากการรวบรวมข้อมูลการศึกษาวิจัยทางคลินิกที่มีทั้งหมดในระยะเวลา 10 ปี ที่ผ่านมาของ Ahmed Abdel - Latif และคณะ[22] พบว่าส่วนใหญ่นักวิจัยจะทำการศึกษาโดยใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูก นำมาเตรียม Mononuclear Cell อาจเป็นเพราะการเตรียมเซลล์ในลักษณะดังกล่าวมีความปลอดภัย และไม่มีอาการข้างเคียงที่เป็นอันตรายแก่ผู้ป่วย ส่วนการแยกเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกให้เหลือเฉพาะ CD133 + Cell อาจทำให้เกิดการอุดตันในขณะฉีดได้[28]

นอกเหนือจากการใช้ Mononuclear Cell จากไขกระดูกในการรักษาผู้ป่วยแล้ว ยังมีนักวิจัยบางส่วนพยายามค้นหาวิธีเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดจากแหล่งอื่นด้วย เช่น การเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดจาก กระแสโลหิต และกล้ามเนื้อ แต่จะต้องนำไปเพาะเลี้ยงในห้องทดลองระยะหนึ่ง เพื่อให้มีปริมาณมากเพียงพอ ก่อนที่จะนำไปรักษาผู้ป่วย ต่างจากเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกที่สามารถนำไปแยก Mononuclear Cell และฉีดให้แก่ผู้ป่วยได้โดยไม่ต้องเพาะเลี้ยง เนื่องจากมีปริมาณเซลล์มากเพียงพอในการรักษาผู้ป่วย[29]

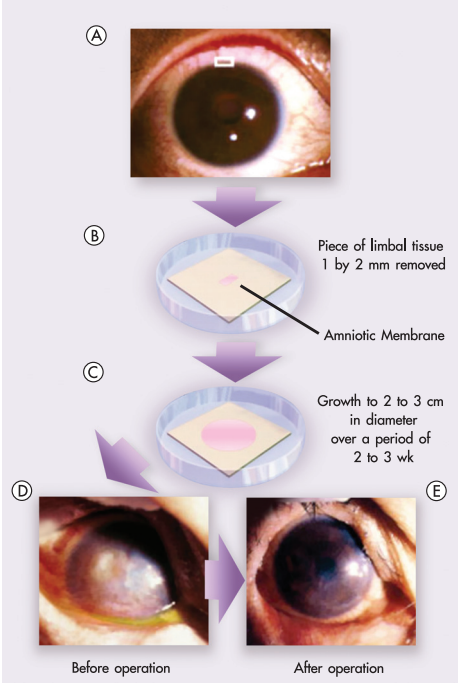


ภาพที่ 6 การเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูก กระแสโลหิต หรือกล้ามเนื้อ สำหรับใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคหัวใจ [29]

Art_ok.pmd 15 8/6/2555, 23:15

โรคกระจกตา

หนึ่งในการศึกษาวิจัยเพื่อนำเซลล์ต้นกำเนิดมาใช้ประโยชน์ทางคลินิก ที่มีแนวโน้มว่าสามารถนำไปใช้เป็นการรักษามาตรฐานได้ในอนาคตอันใกล้ คือ การเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดผิวกระจกตา สำหรับปลูกถ่ายให้แก่ผู้ป่วยที่เป็นโรคทางกระจกตา เช่น กระจกตาได้รับอันตรายจากอุบัติเหตุ หรือสารเคมี, ผิวกระจกตาขุ่น, การแพ้ยาอย่างรุนแรง (Steven-Johnson Syndrome) และแผลติดเชื้อบริเวณผิวกระจกตา เป็นต้น ในกรณีที่ผู้ป่วยมีความผิดปกติของกระจกตาเพียงข้างเดียว แพทย์สามารถนำเซลล์ต้นกำเนิดผิวกระจกตาเพียงเล็กน้อยจากตาข้างที่ยังดีอยู่ มาเพาะเลี้ยงบนเยื่อหุ้มรก ให้ได้ปริมาณเพียงพอ ก่อนที่จะนำไปปลูกถ่ายให้กับตาข้างที่ผิดปกติ [30]



ภาพที่ 7 การรักษาผู้ป่วยโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดผิวกระจกตาบนเยื่อหุ้มรก เพื่อเพิ่มปริมาณให้เพียงพอก่อนที่จะนำกลับไปใช้ในการรักษาผู้ป่วย [30]

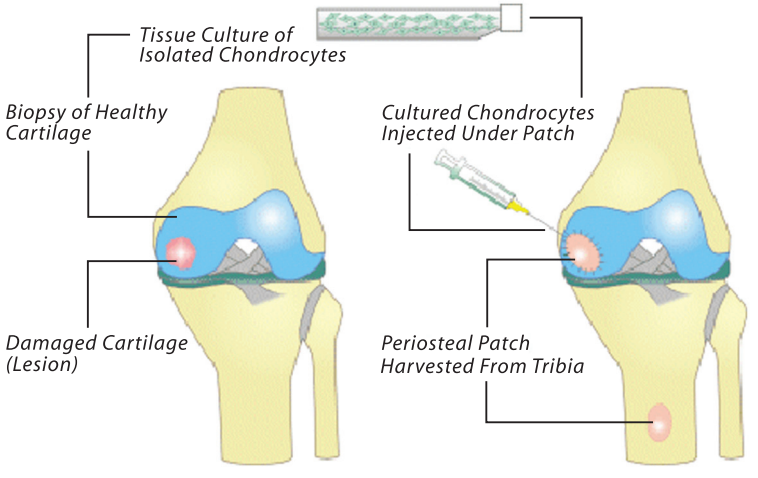
นอกจากนั้น ยังมีนักวิจัยอีกจำนวนมากที่พยายามพัฒนาวิธีเพาะเลี้ยงแผ่นเซลล์กระจกตา โดยวิธีการทางวิศวกรรมเนื้อเยื่อ เช่น การฉาบจานเพาะเลี้ยงเซลล์ด้วยสารเคมี N-isopropylamide ก่อนนำมาเพาะเลี้ยงเซลล์ ซึ่งเซลล์ยังคงสามารถเจริญยึดเกาะกับจานเพาะเลี้ยงได้ในอุณหภูมิปกติ แต่แผ่นเซลล์ทั้งหมดจะหลุดลอกจากจานเพาะเลี้ยงได้ โดยไม่แยกขาดจากกันเมื่อได้รับความเย็นจัด วิธีนี้ทำให้นักวิจัย

Art_ok.pmd 16 8/6/2555, 23:15

สามารถเพาะเลี้ยงแผ่นเซลล์กระจกตาสำหรับใช้ประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยได้ [5, 31] ขณะนี้กำลังอยู่ในระหว่างการศึกษาวิจัยทางคลินิก

โรคของกระดูกอ่อน

วิศวกรรมเนื้อเยื่อของกระดูกอ่อนที่สามารถใช้ในการรักษาแล้วในปัจจุบัน คือ การนำเซลล์กระดูกอ่อน (Chondrocyte) จากร่างกายของผู้ป่วยเอง เช่น จากกระดูกอ่อนบริเวณที่สมบูรณ์ นำมาเพาะเลี้ยงในห้องทดลองให้ได้จำนวนมากพอ โดยใส่รวมกับโครงร่างคอลลาเจน จากนั้นนำกลับเข้าไปรักษาบริเวณกระดูกอ่อนผิวข้อเสื่อมของตัวผู้ป่วย โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงเซลล์กระดูกอ่อนใช้เวลาประมาณ 5 สัปดาห์ จะได้เซลล์กระดูกอ่อนประมาณ 10-15 ล้านเซลล์[2,5] ส่วนการรักษาโดยใช้เซลล์ต้นกำเนิด ยังคงอยู่ในระหว่างการวิจัย ซึ่งมีนักวิจัยจำนวนมากพยายามเพาะเลี้ยงเซลล์ต้นกำเนิดชนิด Mesenchymal Stem Cell ให้ได้เป็น Cell Sheet สำหรับนำไปใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของเซลล์กระดูกอ่อน[2] คาดว่าจะสามารถพัฒนาเข้าสู่การรักษามาตรฐานได้ในอนาคตอันใกล้นี้



ภาพที่ 8 การรักษาผู้ป่วยโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์กระดูกอ่อน [2]

Art_ok.pmd 17 8/6/2555, 23:15

ข้อกำหนดที่เกี่ยวข้องในการเตรียมเซลล์ต้นกำเนิดทางห้องปฏิบัติการ [32-36]

เซลล์ต้นกำเนิดที่นำไปใช้ในการรักษาผู้ป่วย ควรผ่านขั้นตอนการเตรียมตามมาตรฐานสากล เพื่อให้มั่นใจว่ามีคุณภาพตามที่ผู้วิจัยต้องการ และที่สำคัญจะต้องปลอดภัยสำหรับผู้ป่วย หากเซลล์ต้นกำเนิดที่ใช้จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความเสี่ยงน้อย ผู้วิจัยควรดำเนินการให้สอดคล้องตามข้อกำหนดในหลักเกณฑ์วิธีการที่ดี ในการเตรียมเนื้อเยื่อหรือ Good Tissue Practice (GTP) แต่ถ้าเป็นเซลล์ต้นกำเนิดในกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูง นอกจากจะต้องดำเนินการให้สอดคล้องตามข้อกำหนด GTP แล้ว ยังต้องดำเนินการให้สอดคล้องกับหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตหรือ Good Manufacturing Practice (GMP) ด้วย สำหรับแนวทางในการพิจารณาระดับความเสี่ยงของเซลล์ต้นกำเนิด ส่วนใหญ่อาศัยตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกากำหนดเป็นต้นแบบ โดยมีปัจจัยที่ใช้ในการพิจารณาระดับความเสี่ยงของเซลล์และเนื้อเยื่อ ดังนี้ [32-33]

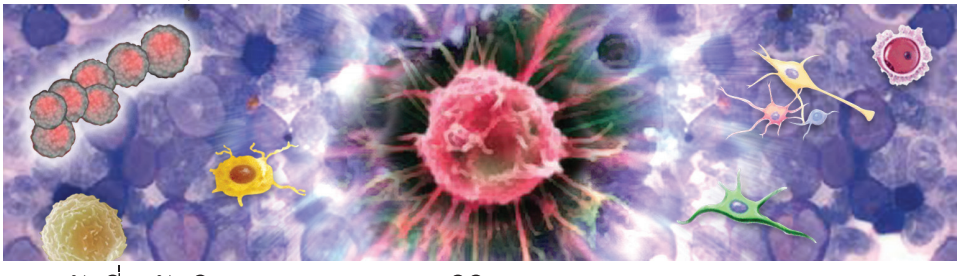
1. ปัจจัยเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเตรียมเซลล์หรือเนื้อเยื่อ

    1.1 หากกระบวนการเตรียมประกอบด้วยขั้นตอนที่ไม่ยุ่งยาก ซับซ้อน (Minimal Manipulation) เช่น มีเพียงการปั่นแยก Mononuclear Cell จากไขกระดูก (Bone Marrow) หรือเลือดสายสะดือทารกแรกเกิด (Cord Blood) ถือว่ามีความเสี่ยงน้อยในการก่อให้เกิดเหตุการณ์อันไม่พึงประสงค์ ในทางตรงกันข้าม หากการเตรียมประกอบด้วยหลายขั้นตอน และมีความซับซ้อน (more than Minimal Manipulation) เช่น การเพาะเลี้ยงเซลล์ในห้องทดลอง และ/หรือ การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเซลล์ ในลักษณะนี้ถือว่าเซลล์ที่ได้มีความเสี่ยงสูง

    1.2 การเตรียมเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ต้องใช้ยา อุปกรณ์ หรือส่วนประกอบอื่น ที่ไม่ใช่เซลล์หรือเนื้อเยื่อร่วมด้วย สิ่งต่าง ๆ เหล่านี้ ส่งผลให้กระบวนการเตรียมเซลล์มีความซับซ้อนมากขึ้น พฤติกรรมและหน้าที่ของเซลล์หรือเนื้อเยื่ออาจเปลี่ยนแปลงไป จนส่งผลกระทบถึงความปลอดภัยในการนำไปใช้รักษาผู้ป่วย จึงถือว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญที่ทำให้เซลล์และเนื้อเยื่อที่ได้ มีความเสี่ยงสูงที่จะทำให้เกิดเหตุการณ์อันไม่พึงประสงค์

Art_ok.pmd 18 8/6/2555, 23:15

2. ปัจจัยเสี่ยงจากวิธีการนำเซลล์หรือเนื้อเยื่อไปใช้ประโยชน์ หากเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่นำไปใช้รักษาผู้ป่วยยังคงทำหน้าที่เดิมภายหลังปลูกถ่าย (Homologous use) เช่น การใช้เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตในการรักษาผู้ป่วยมะเร็งเม็ดโลหิต เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตยังคงทำหน้าที่เดิมในการสร้างเม็ดโลหิต เช่นเดียวกับก่อนการปลูกถ่าย ถือว่ามีความเสี่ยงน้อย ในทางตรงกันข้าม ถ้านำเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตไปใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางเมตาโบลิซึ่ม เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตที่ปลูกถ่ายให้แก่ผู้ป่วยมีการเปลี่ยนแปลงหน้าที่ไป กรณีนี้ถือว่ามีความเสี่ยงสูงที่จะทำให้เกิดเหตุการณ์อันไม่พึงประสงค์



3. ปัจจัยเสี่ยงอันเกิดจากผลกระทบทางคลินิก

3.1 Product Activity การนำเซลล์หรือเนื้อเยื่อไปใช้ในการรักษาผู้ป่วย หากเป็นการปลูกถ่ายแบบเฉพาะที่ (Localized Effect) ถือว่ามีความเสี่ยงน้อยที่จะทำให้เกิดเหตุการณ์อันไม่พึงประสงค์ แต่ถ้าการปลูกถ่ายมีผลต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย (Systemic Effect) เซลล์หรือเนื้อเยื่อจะมีโอกาสสัมผัสและทำปฏิกิริยากับเซลล์อื่นๆ หลายชนิดในร่างกายของผู้ป่วย กรณีนี้ถือว่ามีความเสี่ยงสูง

3.2 การทำงานของเซลล์หรือเนื้อเยื่อภายหลังปลูกถ่าย หากต้องอาศัยการทำงานหรือผลจากการทำงานของเซลล์หรือเนื้อเยื่ออื่นร่วมด้วย จึงจะทำหน้าที่ได้ตามที่ต้องการ ถือว่ายากที่จะคาดเดาผลการทำงานของเซลล์ หรือเนื้อเยื่อที่ปลูกถ่ายได้ กรณีนี้ถือว่ามีความเสี่ยงสูง

4. ปัจจัยภายในของเซลล์หรือเนื้อเยื่อเอง เช่น การใช้เซลล์ต้นกำเนิดของผู้ป่วยเอง (Autologous) ย่อมมีความเสี่ยงน้อยกว่าการใช้เซลล์ต้นกำเนิด ของผู้อื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกันตามสายโลหิต (Unrelated Allogeneic) ซึ่งอาจจะถ่ายทอดความผิดปกติทางพันธุกรรมและ/หรือโรคติดเชื้อไปสู่ผู้ป่วยได้

Art_ok.pmd 19 8/6/2555, 23:15

ในการพิจารณาว่าเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่เตรียมได้จัดว่าเป็นชนิดที่มีความเสี่ยงสูงหรือไม่ ต้องพิจารณาในทุกปัจจัยที่เกี่ยวข้องดังกล่าวข้างต้น หากปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งมีผลให้เกิดความเสี่ยงสูง แม้เพียงปัจจัยเดียว ก็ส่งผลให้เซลล์หรือเนื้อเยื่อที่เตรียมได้มีความเสี่ยงสูงอันจะทำให้เกิดเหตุการณ์อันไม่พึงประสงค์ได้ ดังนั้น เซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ถือว่ามีความเสี่ยงน้อย จะต้องเตรียมด้วยวิธีที่ไม่ซับซ้อน, ไม่มีการใช้ยา อุปกรณ์หรือส่วนประกอบอื่นที่ไม่ใช่เซลล์หรือเนื้อเยื่อร่วมด้วย, เมื่อปลูกถ่ายในผู้ป่วยแล้วเซลล์และเนื้อเยื่อยังคงทำหน้าที่เดิมในลักษณะ Homologous Use ไม่มีผลเชิงระบบและการทำงานไม่ขึ้นกับ Metabolic Activity ของเซลล์อื่น

ตัวอย่างเซลล์ต้นกำเนิดที่มีความเสี่ยงน้อยได้แก่ การใช้เซลล์ต้นกำเนิดจาก Cord Blood ของผู้ป่วยเองที่เก็บรักษาไว้อย่างดี ในการรักษาโรคมะเร็งเม็ดโลหิตที่ไม่ได้เกิดจากความผิดปกติทางพันธุกรรม ส่วนตัวอย่างเซลล์ต้นกำเนิดที่มีความเสี่ยงสูงได้แก่ การใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากไขกระดูกของผู้ป่วยในการรักษาโรคหัวใจ, การใช้เซลล์ต้นกำเนิดที่ได้รับการดัดแปลงทางพันธุกรรม หรือเพาะเลี้ยงบน Synthetic Scaffold ในการรักษาผู้ป่วย

Good Manufacturing Practice (GMP)[36]

เป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปว่า เซลล์ต้นกำเนิดสำหรับใช้ในการปลูกถ่ายให้แก่ผู้ป่วยจะต้องเตรียมภายใต้หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิต (GMP) ซึ่งเป็นข้อกำหนดที่ครอบคลุมกระบวนการที่เกี่ยวข้องทั้งหมดเพื่อให้มั่นใจว่ากระบวนการผลิตมีความคงที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพ มีประสิทธิภาพ และมีความปลอดภัย

ภายใต้หลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิต กระบวนการผลิตต้องดำเนินการในสถานที่สะอาดที่ได้รับการออกแบบ และดูแลรักษาอย่างเหมาะสม เพื่อลดโอกาสเกิดการปนเปื้อน บุคลากรที่เกี่ยวข้อง ทั้งด้านการผลิต การควบคุมคุณภาพ และการประกันคุณภาพต้องได้รับการฝึกฝนอบรมเป็นอย่างดี จนมีความสามารถและความชำนาญสูง มีการจัดทำ ทบทวน และแจกจ่ายเอกสาร อย่างเหมาะสม การดำเนินงานต้องสอดคล้องตามมาตรฐานการปฏิบัติงานที่กำหนดอย่างเคร่งครัด มีการควบคุม

Art_ok.pmd 20 8/6/2555, 23:15

คุณภาพระหว่างผลิต เครื่องมือที่เกี่ยวข้องได้รับการสอบเทียบ และดูแลรักษาเป็นอย่างดี มีการเก็บบันทึกที่เกี่ยวข้องในทุกๆ ด้าน มีการกำหนดเกณฑ์ในการยอมรับผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ ก่อนส่งให้แพทย์สำหรับใช้ในการรักษาผู้ป่วย มีการตรวจสอบตนเองและตรวจสอบระบบคุณภาพ เพื่อตรวจสอบ ปรับปรุง และพัฒนาให้การดำเนินงานขององค์กรมีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น

ข้อกำหนด GMP	ข้อกำหนด GTP
- Organization and Personnel - Building and Facility - Procedures - Equipment - Control of Components, Containers and Closures - Production and Process Controls - Holding and Distribution - Laboratory Controls - Records and Reports	-Quality Programme - Organization and Personnel - Procedures - Facilities, Environment Control and Monitoring - Equipment - Supplies and Reagents - Processing and Process Controls - Labeling Controls - Storage - Receipt and Distribution - Records - Tracking - Complaints File - Donor Eligibility Determination

Good Tissue Practices (GTP)[36]

เนื่องจาก GMP มีพื้นฐานจากการกำหนดหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตยาเป็นหลัก รายละเอียดใน GMP จึงไม่ครอบคลุมการผลิตเซลล์และเนื้อเยื่อ มีความจำเป็นที่จะต้องมีข้อกำหนดเพิ่มเติม เพื่อให้มั่นใจว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ปราศจากการปนเปื้อน และมีกระบวนการที่ทำให้มั่นใจว่าเซลล์ที่ผลิตได้มีสภาพที่สมบูรณ์ และมีความสามารถตามที่ต้องการ รายละเอียดใน GTP บางส่วนคล้ายกับรายละเอียดใน GMP แต่ก็มีหลายประการที่กำหนดขึ้นให้เหมาะสมสำหรับการจัดเตรียมเซลล์และเนื้อเยื่อโดยเฉพาะ ซึ่งผู้วิจัยสามารถประยุกต์ใช้ในการทำงานได้ อาทิเช่น

Art_ok.pmd 21 8/6/2555, 23:15

1. การคัดเลือกผู้ให้ที่เหมาะสม โดยการตรวจวิเคราะห์โรคติดเชื้อที่อาจถ่ายทอดจากผู้ให้ไปสู่ผู้รับได้

2. การคัดเลือกวัสดุ และน้ำยา ต้องมีการกำหนดคุณลักษณะของวัสดุทั้งหมดที่มีความสำคัญในกระบวนการผลิต หากเป็นไปได้วัสดุที่ใช้ควรผ่านการผลิตตามข้อกำหนด GMP เช่นกัน เพื่อความมั่นใจในประสิทธิภาพ และความปลอดภัย ในกรณีที่มีความจำเป็นต้องใช้วัสดุที่ผลิตมาสำหรับการวิจัย (Research Grade) ควรมีการตรวจสอบคุณสมบัติที่สำคัญก่อนนำไปใช้ในการผลิตเซลล์สำหรับผู้ป่วย

3. Process Validation เซลล์ต้นกำเนิดเป็นเซลล์ที่มีชีวิต ซึ่งมีปัจจัยภายในด้านชีวภาพหลายอย่างที่ส่งผลให้เกิดความหลากหลายของการแสดงออกของเซลล์ ทำให้กระบวนการผลิตเซลล์มีความยุ่งยากมากกว่าการผลิตยา ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีคุณสมบัติที่ชัดเจน ดังนั้น Process Validation จึงเป็นกระบวนการสำคัญที่ทำให้มั่นใจว่าการผลิตเซลล์มีความสม่ำเสมอและควบคุมได้ มีการติดตามคุณสมบัติของเซลล์ต้นกำเนิดอย่างสม่ำเสมอตลอดกระบวนการผลิต

4. Product Release Testing ผลิตภัณฑ์เซลล์ต้นกำเนิดที่เตรียมได้จะต้องผ่านการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อให้มั่นใจว่าปลอดภัย มีความบริสุทธิ์ มีความสามารถและความคงทนตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ ก่อนส่งให้แพทย์นำไปใช้ในการรักษาผู้ป่วย

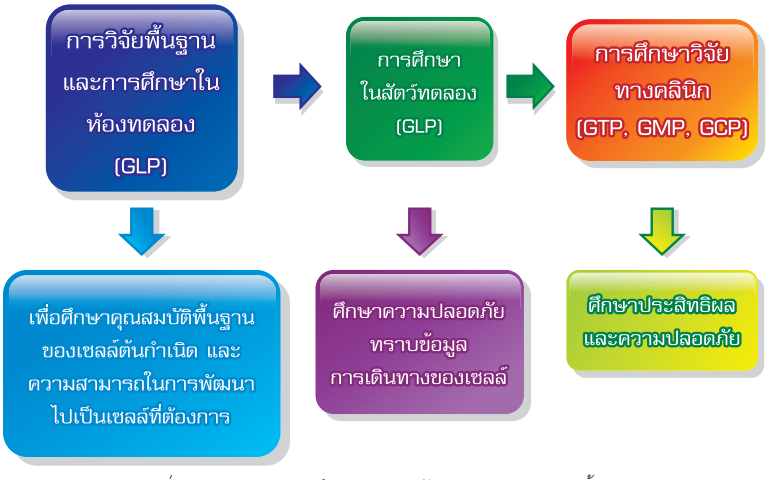
บทสรุป

ปัจจุบันการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ต้นกำเนิด นับเป็นหนึ่งในสาขาที่มีความก้าวหน้าที่สุดทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ เซลล์ต้นกำเนิดเป็นเซลล์ที่มีลักษณะเฉพาะคือ มีความสามารถในการสร้างเซลล์ทดแทนตนเอง มีความสามารถในการคงสภาพความเป็นเซลล์ต้นกำเนิด และมีศักยภาพในการเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์จำเพาะชนิดต่างๆ ได้ในสภาวะที่เหมาะสม เซลล์ต้นกำเนิดแบ่งได้หลายประเภทตามระยะเวลาในการพัฒนาการ แต่ชนิดที่มีหลักฐานในการศึกษาวิจัยมากที่สุดมี 2 ประเภท คือ เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน และเซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกายที่เจริญเติบโตเต็มที่ เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนถึงแม้จะมีศักยภาพที่สูงกว่าเซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกาย

Art_ok.pmd 22 8/6/2555, 23:15

ที่เจริญเติบโตเต็มที่ แต่ยังมีข้อจำกัดหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อโต้แย้งทางจริยธรรมที่เกี่ยวข้องกับการทำลายตัวอ่อน และความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง อย่างไรก็ตาม การค้นพบวิธีการใหม่ในการเหนี่ยวนำให้เกิด Pluripotent Stem Cell โดยวิธีทางพันธุวิศวกรรม (iPSC) ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อน อาจเป็นจุดเริ่มต้นที่สำคัญที่ทำให้การพัฒนางานวิจัยด้านเซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนดำเนินต่อไปได้ โดยไม่มีข้อโต้แย้งทางจริยธรรม ส่วนเซลล์ต้นกำเนิดจากร่างกายที่เจริญเติบโตเต็มที่ ถึงแม้ว่าจะมีความสามารถในการเพิ่มจำนวน และพัฒนาไปเป็นเซลล์หรือเนื้อเยื่ออื่นได้น้อยกว่า แต่ไม่มีปัญหาทางด้านจริยธรรมเข้ามาเกี่ยวข้อง จึงมีผู้สนใจศึกษาเป็นจำนวนมาก การใช้ประโยชน์จากเซลล์ต้นกำเนิดที่ถือเป็นการรักษามาตรฐานเพียงอย่างเดียวในปัจจุบัน คือ การปลูกถ่ายเซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิตจากไขกระดูก สำหรับรักษาผู้ป่วยทางโลหิตวิทยา ที่เหลือล้วนแต่ยังอยู่ในการศึกษาวิจัยทั้งสิ้น

การนำเซลล์ต้นกำเนิดไปใช้ในการศึกษาวิจัยทางคลินิกอย่างเหมาะสม ผู้วิจัยจะต้องพิจารณาอย่างรอบคอบในการคัดเลือกเซลล์ต้นกำเนิดเข้าสู่กระบวนการศึกษาวิจัยทางคลินิก ต้องมีข้อมูลการศึกษาที่น่าเชื่อถือ และครบถ้วนทั้งการวิจัยพื้นฐานในระดับห้องทดลอง และการศึกษาในสัตว์ทดลอง (ภาพที่ 9) ที่แสดงให้เห็นแนวโน้มในการใช้ประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพและปลอดภัย ก่อนที่จะเข้าสู่การศึกษาวิจัยในคน ซึ่งจะต้องดำเนินการตาม GCP โดยเน้นหลักความปลอดภัยและการเคารพศักดิ์ศรีของมนุษย์อย่างเคร่งครัด



ภาพที่ 9 แนวทางในการศึกษาวิจัยเซลล์ต้นกำเนิดจากการวิจัยพื้นฐาน และการศึกษาในห้องทดลองสู่การศึกษาในสัตว์ทดลอง และการศึกษาวิจัยทางคลินิกตามลำดับ

Art_ok.pmd 23 8/6/2555, 23:15

การศึกษาวิจัยด้านเซลล์ต้นกำเนิดมีความเกี่ยวข้องกับบุคลากรหลากหลายสาขาวิชาชีพ การศึกษาทางห้องปฏิบัติการ เกี่ยวข้องกับนักเทคนิคการแพทย์และนักวิทยาศาสตร์สาขาต่างๆ หากเป็นการศึกษาด้านวิศวกรรมเนื้อเยื่อ อาจเกี่ยวข้องกับวิศวกร สถาปนิก นักฟิสิกส์ และนักเคมี การศึกษาในสัตว์ทดลอง เกี่ยวข้องโดยตรงกับสัตวแพทย์ การศึกษาที่เกี่ยวข้องมนุษย์ และการรักษาพยาบาล เกี่ยวข้องกับแพทย์ พยาบาล และเภสัชกร หากนักวิจัยทุกสาขาวิชาชีพมีความร่วมมือ และช่วยเหลือซึ่งกันและกัน จะช่วยให้การวิจัยในประเทศไทยมีความก้าวหน้าไปได้อย่างรวดเร็ว ก่อให้เกิดประโยชน์ทั้งทางด้านความก้าวหน้าทางวิชาการ และการบูรณาการองค์ความรู้สู่การปฏิบัติเพื่อพัฒนาวิธีการรักษา และพัฒนาคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยให้ดียิ่งขึ้นไป

เอกสารอ้างอิง

1. Donnall ET, Hutchinson F. Historical review: A history of haematopoietic cell transplantation. Brit J Haematol 1999; 105: 330-339.
2. Bongso A, Lee EH. Stem cells: from bench to bedside. 1st ed. Singapore: World Scientific Publishing; 2005.
3. The National Institute of Health, U.S. Department of Health and Human Services. Stem cell basics. (online). 2006 (cited 2008 September 16); Available from URL: http://stemcells.nih.gov/
4. Prentice DA. Testimony: Senate commerce subcommittee in science, technology and space. (online). 2004 Sep (cited 2008 September 16); Available from URL: http://www.stemcellresearch.org/testimony/ 20040929/ prentice.htm.
5. สุทธิศักดิ์ หรรษาเวก, วินัย พากเพียร. วิทยาศาสตร์การแพทย์ของกระดูกเซลล์ต้นกำเนิดและวิศวกรรมเนื้อเยื่อ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2550.
6. ศุภเสกข์ ศรจิตติ. พื้นฐานเซลล์ต้นกำเนิด. (online). 2007 Dec (cited 2008 September 16); (4 screens). Available from URL: http://www.vcharkarn.com
7. Wobus AM, Boheler KR. Embryonic stem cells: Prospects for developmental biology and cell therapy. Physiol Rev 2005; 85: 635-678.

Art_ok.pmd 24 8/6/2555, 23:15

8. Kiatpongsan S, Tannirandorn Y, Numchaisrikha P, Rungsiwiwut R. Conventional and novel methods for embryonic stem cell line derivation. J Med Assoc Thai 2006; 89: 896-903.
9. Weissman IL. Medicine: politic stem cells. Nature 2006; 439: 145-147.
10. Wikipedia (online). Induced pluripotent stem cell. (online). 2008 Sep (cited 2008 September 16); Available from URL: http://en.wikipedia.org/
11. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic stem and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell 2006; 126: 663-676.
12. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. Science 2007; 318: 1917-1920.
13. Kiatpongsan S, Tannirandorn Y, Virutamasen P. Introduction to stem cell medicine. J Med Assoc Thai 2006; 89: 111-117.
14. Encyclopedia of surgery. Bone marrow transplantation. (online). 2004 (cited 2008 September 16); Available from URL: http://www.surgeryencyclopedia.com/ A-Ce/Bone-Marrow-Transplantatiom. html
15. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kostering M, Hernandez A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. Circulation. 2002; 106: 1913-1918.
16. Karra R, Wu S M. Multipotent stem cells in cardiac regeneration. Regen Med. 2008; 3: 189-198.
17. Schachinger V, Assmus B, Britten MB, Honold J, Lehmann R, Teupe C, et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction: final one-year results of the TOPCARE-AMI trial. J Am Coll Cardiol 2004; 44: 1690-1699.
18. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, Haberbosch W, Hambrecht R, Holschermann H, et al. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. N Eng J Med 2006; 355: 1210-1221.

Art_ok.pmd 25 8/6/2555, 23:15

19. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, Haberbosch W, Hambrecht R, Holschermann H, et al. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. Eur Heart J 2006; 27: 2775-2783.
20. Wollert K C, Meyer G P, Lotz J, Ringes-Lichtenberg S, Lippolt P, Breidenbach C, et al. Intracoronary autologous bone marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomizedcontrolled clinical trial. Lancet 2004; 364: 141-148.
21. Assmus B, Honold J, Schachinger V, Britten MB, Fischer-Rasokat U, Lehmann R, et al. Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction. N Eng J Med 2006; 355: 1222-1232.
22. Abdel-Latif A, Bolli R, Tleyjeh IM, Montori VM, Perin EC, Hornung CA, et al. Adult bone marrow-derived cells for cardiac repair. Arch Intern Med 2007; 167: 989-997.
23. Mikino S, Fukuda K, Miyoshi S, Konishi F, Kodama H, Pan J, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stroma cells in vitro. J Clin Invest 1999; 103: 697-705.
24. Toma C, Pittenger M F, Cahill K S, Byrne B J, Kessler P D. Human mesenchymal stem cells differentiate to cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. Circulation 2002; 105: 93-98.
25. Hattan N, Kawaguchi H, Ando K, Kuwabara E, Fujita J, Murata M, et al. Purified cardiomyocytes from bone marrow mesenchymal stem cells produce stable intracardiac grafts in mice. Cardiovasc Res 2005; 65: 334-344.
26. Urbich C, Aicher A, Heeschen C, Dernbach E, Hofmann WK, Zeiher AM, et al. Soluble factors released by endothelial progenitor cells promote migration of endothelial cells and cardiac resident progenitor cells. J Mol Cell Cardiol 2005; 39: 733-742.

Art_ok.pmd 26 8/6/2555, 23:15

27. Beltrami A P, Barlucchi L, Torella D, et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. Cell 2003; 114: 763-776.
28. Bartunek J, Vanderheyden M, Vandekerckhove B, Mansour S, De Bruyne B, De Bondt P, et al. Intracoronary injection of CD133- positive enriched bone marrow progenitor cells promote cardiac recvery after recent myocardial infarction: feasibility and safety. Circulation 2005; 112 (suppl): I178-I183.
29. Dimmeler S, Zeiher A M, Schneider M D. Unchain my heart: the scientific foundations of cardiac repair. J Clin Invest 2005; 115: 572-583.
30. Tsai R J, Li L M, Chen J K. Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells. N Eng J Med 2000; 343: 86-93.
31. Yang J, Yamato M, Nishida K, Hayashida Y, Shimizu T, Kikuchi A, et al. Corneal epithelial stem cell delivery using cell sheet engineering: not lost in transplantation. J Drug Target 2006; 14: 471-482.
32. Burger SR. Current regulatory issues in cell and tissue therapy. Cytotherapy 2003; 5: 289-298.
33. Burger SR. GTP/GMP cell engineering for cell and gene therapies. BioProcessing 2003.
34. Halme DG, Kessler DA. FDA regulation of stem-cell-based therapies. N Engl J Med 2006; 355: 1730-1735.
35. Giordano R, Lazzari L, Rebulla P. clinical grade cell manipulation. Vox Sang 2004; 87: 65-72.
36. Gee AP. The impact of regulatory policy on the development of somatic cell therapies in the United States. Transplant Immunology 2002; 9: 295-300.

Art_ok.pmd 27 8/6/2555, 23:15

STEM CELL PROCESS
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES
อาคารห้องปฏิบัติการ
เซลล์ต้นกำเนิด