

## ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การตรวจหาลักษณะเฉพาะของเซลล์ต้นกำเนิดหรือ  
เซลล์มะเร็งในเซลล์เชื้อสายน้ำคร่ำมนุษย์ เอเอ็มซี-เค46  
และ เอซี-เอฟ2

## ผู้เขียน

นางสาว เกวลิน อินทนนท์

## ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

## คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ. ดร. วีระ วงศ์คำ

ประธานกรรมการ

ผศ. ดร. สิริวดี ชมเดช

กรรมการ

## บทคัดย่อ

น้ำคร่ำของมนุษย์ประกอบไปด้วยเซลล์หลายชนิด ซึ่งเป็นเซลล์ที่หลุดมาจากตัวอ่อน และเนื้อเยื่อหุ้มตัวอ่อน จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ ได้นำตัวอย่างน้ำคร่ำส่งตรวจที่ได้จากการเจาะน้ำคร่ำ (amniocentesis) มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเซลล์มนุษย์และสัตว์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยมีความเชื่อว่าเซลล์เกิดการกลายพันธุ์แบบเกิดเอง (spontaneous mutation) ในสภาพเลี้ยงจนกลายเป็นเซลล์น้ำคร่ำสองเชื้อสาย (cell lines) คือ AMC-K46 และ AC-F2 โดยพบว่ามียลักษณะบางประการคล้ายเซลล์มะเร็ง เช่น มีความหลากหลายของชนิดของเซลล์ (heterogeneity) และมีจำนวนโครโมโซมผิดปกติแบบ aneuploidy ในงานวิจัยนี้ได้ทำการตรวจสอบเนื้อเยื่อต้นกำเนิดของเซลล์ทั้งสองเชื้อสายด้วยเทคนิค immunocytochemistry พบว่าผลเป็นลบต่อ cytokeratin AE1&AE3 ซึ่งจะจำเพาะต่อเซลล์ที่มีต้นกำเนิดมาจากเซลล์บุผิว (epithelial cells) แต่ให้ผลเป็นบวกต่อ vimentin และ alpha-feto protein (AFP) ซึ่งจะจำเพาะต่อเซลล์ที่มีต้นกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อเจริญชั้นนอก (ectoderm) และชั้นใน (endoderm) ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบคุณสมบัติความเป็นเซลล์ต้นกำเนิดและเซลล์มะเร็งของเซลล์เชื้อสายน้ำคร่ำทั้งสอง พบว่ามีอัตราการแบ่งตัวสูงกว่าเซลล์น้ำคร่ำปกติเมื่อตรวจสอบด้วยการย้อม Ki-67 ซึ่งจะจำเพาะต่อเซลล์ที่กำลังแบ่งตัว จากการศึกษาระดับการแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค semi-quantitative RT-PCR และ real-time PCR พบว่ามีการแสดงออกของยีนในกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับความเป็นมะเร็งซึ่งได้แก่ ยีน SKI และ

*hTERT* ในระดับสูง แต่มีการแสดงออกของยีน *TGF-β1* ในระดับต่ำ ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับเซลล์เชื้อสาย C32 (amelanotic melanoma cell line) และ Hep2 (pharynx carcinoma cells line) ( $p \leq 0.05$ ) นอกจากนี้ยังมีการแสดงออกของยีนกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับความเป็นเซลล์เซลล์ต้นกำเนิด ซึ่งได้แก่ ยีน *ITGA6* และ *ITGB1* ในระดับต่ำ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าเซลล์เชื้อสายน้ำคร่ำ AMC-K46 และ AC-F2 เป็นเซลล์ที่มีต้นกำเนิดมาจากเนื้อเยื่อเจริญชั้นนอกและชั้นในที่แสดงคุณลักษณะของความเป็นเซลล์มะเร็ง ทั้งนี้จากข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้ ทำให้ทราบถึงศักยภาพในการกลายพันธุ์ที่อาจเกิดขึ้นกับเซลล์น้ำคร่ำในสภาพเลี้ยง (*in vitro*)

คำสำคัญ: amniocytes, stem cells, cancer cells, *SKI*, *TGF-β1*, *hTERT*, *ITGA6*, *ITGB1*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

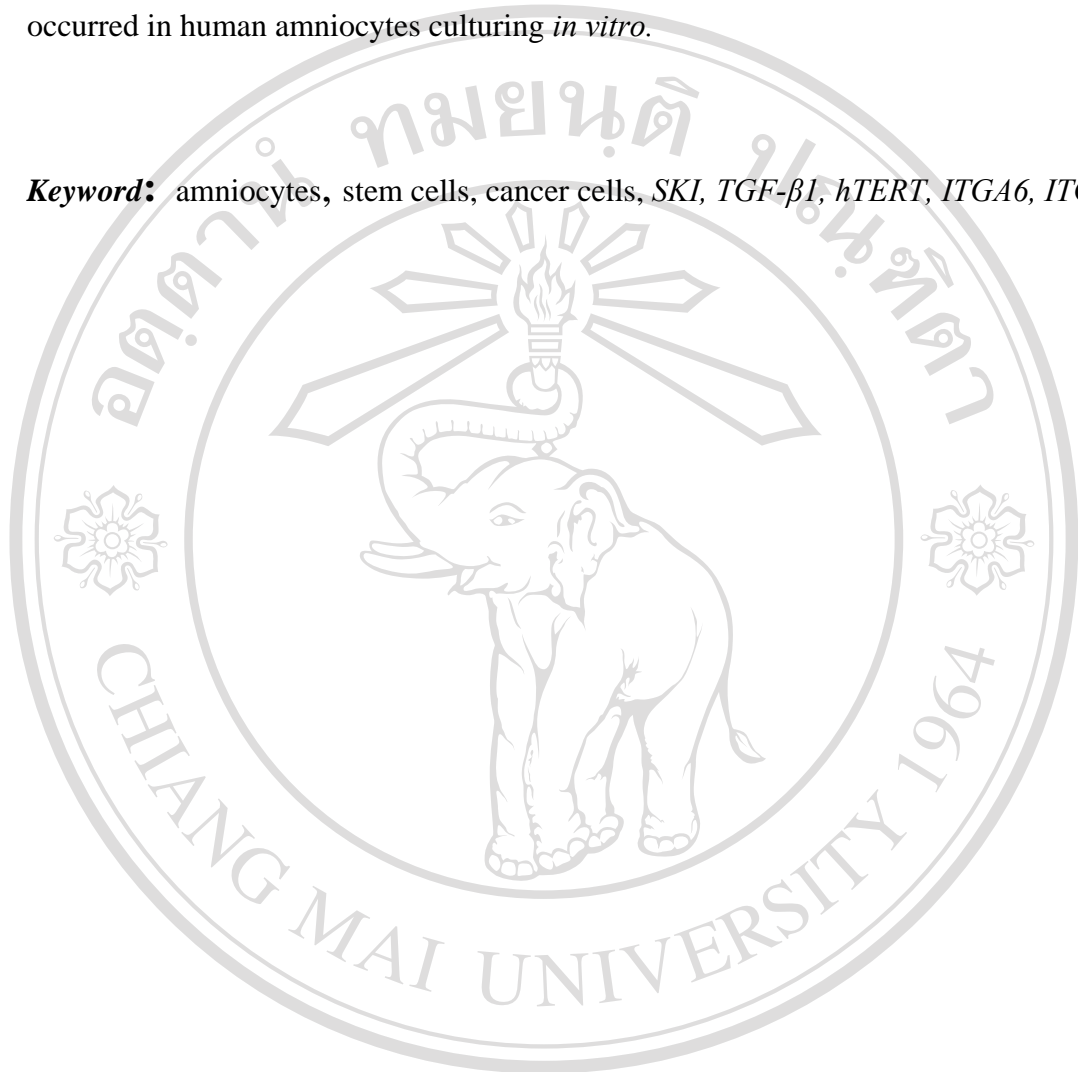
<b>Thesis Title</b>	Detection of Stemness or Carcinogenic Characteristics of Human Amniotic Cell Lines AMC-K46 and AC-F2		
<b>Author</b>	Miss Kewalin Inthanon		
<b>Degree</b>	Master of Science (Biology)		
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Asst. Prof. Dr. Weerah Wongkham	Chairperson	
	Asst. Prof. Dr. Siriwadee Chomdej	Member	

### ABSTRACT

Human amniotic fluid contained a variety of cells. They were shed from embryonic and extra-embryonic tissues. The continuous amniocyte cell lines, AMC-K46 and AC-F2, were retrieved from clinical samples by amniocentesis in previous investigations in Human and Animal Cell Technology Research Laboratory, Faculty of Science, Chiang Mai University. They were believed to get along with the *in vitro* culture by spontaneous mutation. Carcinogenic characteristics were reported on the cell lines such as cell type heterogeneity and chromosome aneuploidy. In this study, the tissue origin of the cell lines were detected by immunocytochemistry. The cell lines were negatively expressed cytokeratin AE1&AE3, the marker of epithelial origin. Vimentin and alpha-feto protein (AFP), the marker of ectodermal and endodermal origin were positively detected. Stem cell and carcinogenic characteristics were examined. The cell lines showed higher potential to proliferate than normal amniocytes with Ki-67 protein marker specific to dividing cells. Semi-quantitative RT-PCR and real-time PCR revealed the up-regulation of cancer related genes, *SKI* and *hTERT* but down-regulation of *TGF-β1* in the cell lines comparing with C32 (amelanotic melanoma cell line) and Hep2 (pharynx carcinoma cell line) ( $p \leq 0.05$ ). Stem cell related genes, *ITGA6* and *ITGB1*, were down-regulated in the two cell lines. In summary, the amniocyte cell lines, AMC-K46 and AC-F2, contain cells

derived from ectodermal and endodermal origin. These two cell lines expressed cancer characteristics. This research showed the potentiality of spontaneous mutation occurred in human amniocytes culturing *in vitro*.

**Keyword:** amniocytes, stem cells, cancer cells, *SKI*, *TGF- $\beta$ 1*, *hTERT*, *ITGA6*, *ITGB1*



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved