

เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในมนุษย์และ การโคลนนิ่งเพื่อการรักษา

ศรภพ เกียรติพงษ์สาร*

กำธร พฤษานานนท์* ประมวล วีรุตมเสน*

Kiatpongsan S, Pruksananonda K, Virutamasen P. Human embryonic stem cell and therapeutic cloning. Chula Med J 2005 Nov; 49(11): 673 - 80

Human embryonic stem cell (hES cell) has a potential to develop into various cell and tissue types. It is a promising tool for creating novel healthy cells and tissues to regenerate and replace diseased, degenerated, or damaged cells and tissues. However, there is an important limitation on immune response between hES-derived cells or tissues and the recipients. Nuclear transfer will be a key technique to overcome this problem and will be a basis for future therapeutic cloning.

Key words : *Human embryonic stem cell, Therapeutic cloning, Somatic Cell Nuclear Transfer, Regeneration.*

Reprint request: Kiatpongsan S. Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.

Received for publication. August 5, 2005.

สรภพ เกียรติพงษ์สาร, กัศร พฤชานานนท์, ประมวล วีรุตมเสน. เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในมนุษย์และการโคลนนิ่งเพื่อการรักษา. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 2548 พ.ย; 49(11): 673 - 80

เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในมนุษย์ (Human embryonic stem cell : hES cell) ได้รับความสนใจอย่างมากทางการแพทย์ โดยเฉพาะศักยภาพในการพัฒนาไปเป็นเซลล์และเนื้อเยื่อต่าง ๆ หลายชนิดของร่างกาย และเป็นความหวังที่จะนำมาใช้สร้างเซลล์และเนื้อเยื่อใหม่ที่ดีเพื่อทดแทน (regeneration and replacement) เซลล์และเนื้อเยื่อที่เป็นโรค เสื่อมสภาพหรือถูกทำลายจากภาวะบาดเจ็บต่าง ๆ อย่างไรก็ตามยังคงมีข้อจำกัด เรื่องปฏิภานกรรมิต้านทานระหว่างร่างกายของผู้รับกับเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ผลิตจากเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในมนุษย์ที่จะนำมาใช้ปลูกถ่ายเพื่อการรักษา กลวิธีสำคัญที่จะสามารถลดปฏิภานกรรมิต้านทานดังกล่าวคือ การผลิตสายพันธุ์ของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในมนุษย์ขึ้นจากเซลล์ของผู้ป่วยที่ต้องการใช้เซลล์หรือเนื้อเยื่อ โดยการใช้เทคนิคการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์ (Somatic Cell Nuclear Transfer ; SCNT) ซึ่งเป็นพื้นฐานของแนวคิดเรื่องการทำแบบจำลองเซลล์และเนื้อเยื่อสำหรับปลูกถ่ายเพื่อการรักษา (therapeutic cloning) ในอนาคต

คำสำคัญ : เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในมนุษย์, การโคลนนิ่งเพื่อการรักษา, การย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์, การสร้างเซลล์และเนื้อเยื่อทดแทน.

ในร่างกายของมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ประกอบด้วยเซลล์ 3 ประเภท ประเภทที่หนึ่งคือเซลล์ร่างกาย (somatic cells) ที่ประกอบขึ้นเป็นเนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ ที่มีลักษณะและการทำงานที่จำเพาะสำหรับแต่ละเนื้อเยื่อและอวัยวะ ประเภทที่สอง คือเซลล์สืบพันธุ์ (germ cells) ได้แก่ เซลล์อสุจิและเซลล์ไข่ ประเภทที่สาม ได้แก่เซลล์ต้นกำเนิด (stem cells) ซึ่งเซลล์ทั้งสามประเภทนี้ของมนุษย์ ล้วนมีการเจริญและพัฒนามาจากเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในมนุษย์ (Human embryonic stem cells: hES cells)

เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในมนุษย์ เป็นเซลล์ที่มีศักยภาพในการพัฒนาไปเป็นเซลล์และเนื้อเยื่อจำเพาะชนิดต่าง ๆ ได้ทุกชนิดของร่างกาย และเป็นความหวังที่จะสามารถใช้สร้างเซลล์และเนื้อเยื่อใหม่ที่ดีเพื่อทดแทนเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่เป็นโรค เสื่อมสภาพ หรือถูกทำลายจากภาวะบาดเจ็บต่าง ๆ ได้⁽¹⁻²⁾ การผลิตสายพันธุ์ของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของมนุษย์ (human embryonic stem cell lines) เกิดขึ้นครั้งแรกโดยการแยกและเพาะเลี้ยงเซลล์ส่วนของ inner cell mass (ICM) จากตัวอ่อนของมนุษย์ในระยะ บลาสโตซิสต์ (blastocyst)⁽³⁾ ต่อมา มีการใช้เทคนิคการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์ (nuclear transfer)⁽⁴⁾ กล่าวคือการใส่ นิวเคลียสของเซลล์ร่างกายลงในเซลล์ไข่ที่แยกเอาส่วนนิวเคลียสเดิมออกก่อน แล้วเพาะเลี้ยงให้มีพัฒนาการเข้าสู่ระยะบลาสโตซิสต์ ต่อมาทำการแยกและเพาะเลี้ยงส่วนของ inner cell mass ไปสร้างเซลล์และเนื้อเยื่อใหม่สำหรับปลูกถ่ายเพื่อการรักษา (therapeutic cloning) โดยมีลักษณะทางพันธุกรรมของเซลล์และเนื้อเยื่อคล้ายคลึงกับผู้ป่วย โดยวิธีการนี้ คาดว่า จะสามารถช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันต่อต้านระหว่างร่างกายผู้รับและเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ผลิตขึ้นได้

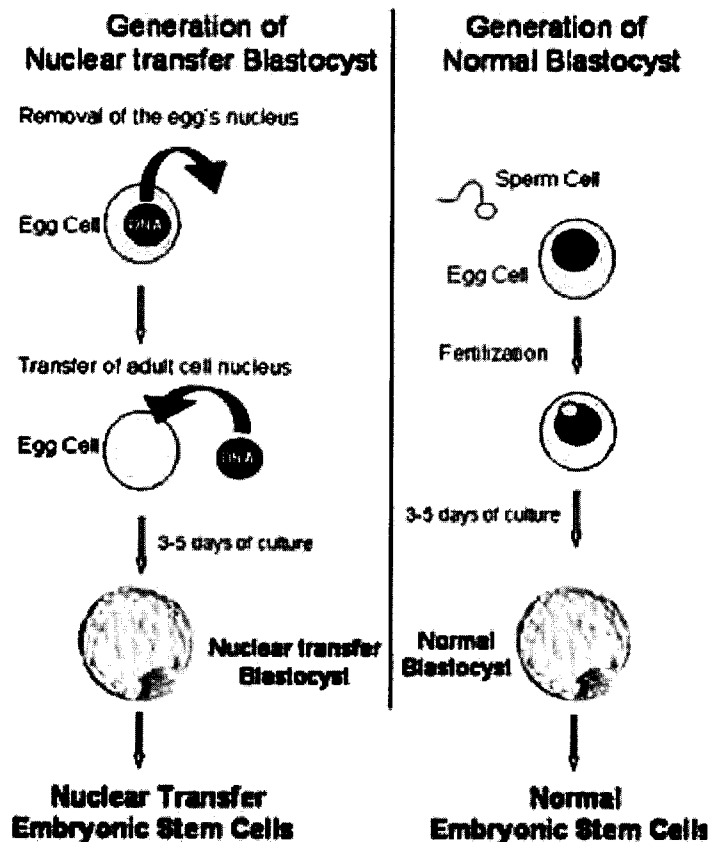
เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนในมนุษย์ เมื่ออยู่ในภาวะที่ยังไม่ได้พัฒนาไปเป็นเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่จำเพาะต่าง ๆ (undifferentiated state) จะกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันน้อยมาก แต่จะมีการผลิตตัวกระตุ้นปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน (antigen) เช่น major histocompatibility

complex ชนิดที่ 1 (MCH-1) เพิ่มมากขึ้น เมื่อมีการพัฒนาไปเป็นเซลล์ที่จำเพาะมากขึ้นตามลำดับขั้นของการพัฒนาการ⁽⁵⁾ ซึ่งตัวกระตุ้นปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันดังกล่าว อาจก่อให้เกิดปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันที่เป็นอันตรายอย่างมากกับผู้รับ ตลอดจนเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้การปลูกถ่ายเซลล์และเนื้อเยื่อล้มเหลว การแก้ปัญหาข้างต้นอาจทำได้โดยการสร้างคลัง (banking) สายพันธุ์ของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน (embryonic stem cell lines)⁽¹⁾ ที่มีความหลากหลายมากพอสำหรับผู้ป่วยทุกคน และสามารถเลือกนำไปกระตุ้นให้พัฒนาเป็นเซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ต้องการแล้วปลูกถ่ายได้ โดยไม่เกิดปฏิกิริยากับผู้ป่วยแต่ละคน ซึ่งสามารถทำได้ยากในทางปฏิบัติและมีค่าใช้จ่ายที่สูงมาก แต่อาจแก้ปัญหาได้โดยใช้เทคนิควิธีการอื่นเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันที่ไม่พึงประสงค์ดังกล่าว ได้แก่ การย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์ (Somatic Cell Nuclear Transfer : SCNT)⁽⁶⁻⁷⁾ โดยนำนิวเคลียสจากเซลล์ร่างกายตัวเต็มวัย (adult somatic cell) ของเซลล์หนึ่งย้ายไปใส่เซลล์ไข่ที่ได้แยกเอาส่วนนิวเคลียสออกก่อนแล้ว (enucleated oocyte) แล้วอาศัยเทคนิคการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าที่ความแรงและช่วงเวลาที่เหมาะสม การเลี้ยงตัวอ่อนระยะแรก (embryonic culture) ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนที่เหมาะสมอย่างมีประสิทธิภาพ จนกระทั่งได้ตัวอ่อนในระยะบลาสโตซิสต์ (blastocyst) หลังจากนั้นก็จะสามารถแยกเฉพาะเซลล์จากส่วน inner cell mass เพื่อใช้สร้างสายพันธุ์ของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมคล้ายคลึง (isogenic)⁽⁸⁻⁹⁾ กับเซลล์ที่เป็นเจ้าของนิวเคลียสที่นำมาใช้ในเทคนิคการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์ขึ้นได้ ซึ่งเซลล์และเนื้อเยื่อที่พัฒนาต่อไปจากสายพันธุ์ดังกล่าวจะสามารถนำมาปลูกถ่ายกลับสู่ร่างกายผู้รับที่เป็นเจ้าของนิวเคลียสเซลล์ตัวเต็มวัยที่ใช้ในขั้นแรก โดยสันนิษฐานว่าจะไม่เกิดภาวะแทรกซ้อนจากปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน หรือมีปัญหาดังกล่าวน้อยมาก เนื่องจากร่างกายผู้รับการปลูกถ่ายจะเกิดการรับรู้และตอบสนองต่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อใหม่เสมือนเป็นเซลล์และเนื้อเยื่อของตนเอง (recognized as self cells or tissues)

ประโยชน์ด้านอื่นนอกจากการช่วยลดปัญหาเรื่องภาวะแทรกซ้อนจากปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันทั้งในระยะสั้นและระยะยาวแล้ว ยังสามารถช่วยหลีกเลี่ยงการใช้สารกดระดับภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive agents) ซึ่งมีราคาแพง มีผลข้างเคียงมาก เพิ่มความเสี่ยงต่อภาวะการติดเชื้อ ผลกระทบด้านลบต่อคุณภาพชีวิตของผู้รับการปลูกถ่ายในระยะยาว

ในทางทฤษฎี ภายหลังจากนำนิวเคลียสจากเซลล์ตัวเต็มวัยของเซลล์หนึ่งย้ายไปใส่เซลล์ไข่ที่ได้แยกเอาส่วนนิวเคลียสออกก่อนแล้ว สารภายในเซลล์ไข่ (oocyte's cytoplasm) จะเหนี่ยวนำให้การแสดงออก

ของสารพันธุกรรม (gene expression) ของนิวเคลียสเปลี่ยนจากสภาวะเดิม (adult differentiated state) กลับสู่ภาวะของตัวอ่อน (embryonic undifferentiated state) โดยเซลล์จะหยุด (silencing) การแสดงออกของสารพันธุกรรมจากในภาวะที่พัฒนาแล้วก่อน จากนั้นเมื่อมีการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า (electrical activation) เซลล์จะเริ่มมีการแสดงออกของสารพันธุกรรมของภาวะตัวอ่อนใหม่อีกครั้ง การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเรียกว่าเป็นการย้อนกลับของการพัฒนาการ (reprogramming) และเป็นความก้าวหน้าสำคัญที่มีประโยชน์อย่างมากในทางวิทยาศาสตร์การแพทย์



รูปที่ 1. แสดงการเปรียบเทียบระหว่างการสร้างสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน จากการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์และจากการปฏิสนธิระหว่างเซลล์สุจิและไข่ตามธรรมชาติ (แหล่งที่มาของภาพ URL:http://www.isscr.org/images/nuclear_transfer.jpg)

แม้ว่าการแสดงออกทางพันธุกรรมของเซลล์ที่เกิดขึ้นใหม่จากการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์จะเป็นไปตามลักษณะเซลล์ของร่างกายที่เป็นแหล่งที่มาของนิวเคลียส หากแต่สารพันธุกรรมอื่น ๆ ที่ยังคงเหลืออยู่ภายใน cytoplasm ของเซลล์ไข่ เช่น ภายใน mitochondria จะมีบทบาทอย่างไรกับสายพันธุ์ของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนนั้น ยังคงต้องการการศึกษาวิจัยต่อไป

การย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์ครั้งแรกในสัตว์ทดลอง เกิดขึ้นเมื่อปี ค.ศ. 1914 โดย Spemann⁽¹⁰⁾ ซึ่งทำการทดลองกับไข่ของสัตว์ในตระกูลซาลาแมนเดอร์ (newt) ต่อมาในปี ค.ศ. 1975 มีการศึกษาในสัตว์จำพวกครึ่งบกครึ่งน้ำ (amphibian) โดย Gurdon และคณะ⁽¹¹⁾ ปี ค.ศ. 1998 Cebelli และคณะสามารถสร้างสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของวัว โดยเริ่มจากนิวเคลียสของเซลล์ fibroblast ของวัวและเซลล์ไข่ของวัวที่นำเอานิวเคลียสออกก่อนแล้ว⁽¹²⁾ หลังจากนั้น ปี ค.ศ. 2000 Munsie และคณะ กับ Kawase และคณะสามารถสร้างสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของหนูโดยเทคนิควิธีการเดียวกัน⁽¹³⁻¹⁴⁾ ต่อมา Wakayama และคณะ สามารถกระตุ้นให้เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนดังกล่าวพัฒนาไปเป็นเซลล์สืบพันธุ์ ที่สามารถผสมพันธุ์และให้กำเนิดเป็นหนูในเวลาต่อมาได้ รวมทั้งสามารถพัฒนาเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนไปเป็นเซลล์ประสาทที่สามารถสร้าง dopamine และ serotonin ได้⁽¹⁵⁻¹⁶⁾

สำหรับการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์มนุษย์นั้นมีรายงาน ในปี 2001 โดย Cebelli และคณะสามารถสร้างเซลล์ตัวอ่อนของมนุษย์ในระยะ 8-10 เซลล์ได้จากเทคนิคการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียส แต่ไม่สามารถพัฒนาไปเป็นตัวอ่อนในระยะบลาสโตซิสต์⁽¹⁷⁾ จนสามารถสร้างเป็นสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของมนุษย์ได้สันนิษฐานว่ามีปัจจัยสำคัญ 3 ประการที่เกี่ยวข้อง คือระยะเวลาที่เหมาะสมในการย้อนพัฒนาการ (reprogramming time) ซึ่งหมายถึงระยะเวลาที่เริ่มมีการรวมตัวกันของเซลล์จนถึงช่วงที่มีการกระตุ้นของเซลล์ไข่ (cell fusion to oocyte activation) ประการที่สองคือ เทคนิค

การกระตุ้นไข่ (oocyte activation) ที่เหมาะสม และ ประการสุดท้ายคือ การเลี้ยงตัวอ่อนของมนุษย์ในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนที่เหมาะสมอย่างมีประสิทธิภาพ ในปี ค.ศ. 2005 Hwang และคณะ ประสบความสำเร็จในการสร้างสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของมนุษย์จำนวน 11 สายพันธุ์ (patient specific embryonic stem cells derived from human SCNT blastocysts)⁽¹⁸⁻¹⁹⁾ โดยใช้เทคนิคการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์ ระหว่างนิวเคลียสของเซลล์มนุษย์ที่เป็นโรคหรือมีภาวะบาดเจ็บและเซลล์ไข่ของมนุษย์ที่ได้รับการบริจาคจำนวนรวม 276 เซลล์ โดยสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของมนุษย์ที่สร้างขึ้นมีคุณสมบัติครบถ้วนตรงตามข้อกำหนดของการเป็นเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน⁽¹⁾ กล่าวคือมีความสามารถในการแบ่งเซลล์ทดแทนตนเอง (self renewal) มีความสามารถคงสภาพความเป็นเซลล์ตัวอ่อนในภาวะที่ยังไม่มีการพัฒนาการ (undifferentiated state) และมีความสามารถพัฒนาไปเป็นเซลล์ชนิดต่าง ๆ ของร่างกายได้เมื่อมีการกระตุ้นที่เหมาะสม นอกจากนี้เมื่อทำการทดสอบเรื่องปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกัน (immunohistocompatibility test) ต่อสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนที่สร้างขึ้น ก็ไม่พบว่ามีปัญหาดังกล่าว คณะผู้วิจัยสันนิษฐานว่าปัจจัยสำคัญที่ทำให้สามารถสร้างสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของมนุษย์โดยการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสได้สำเร็จ เกิดจากเทคนิคการย้ายนิวเคลียสออกจากเซลล์ไข่ที่สามารถคงส่วนประกอบและโครงสร้างที่บอบบางภายในเซลล์ เป็นผลให้รักษากลไกการทำงานภายในเซลล์ไข่ และสามารถกระตุ้นและเลี้ยงจนกระทั่งพัฒนาสู่ระยะบลาสโตซิสต์ และสร้างสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนได้สำเร็จในที่สุด

เทคนิคการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสเพื่อการรักษาโรคได้นำมาศึกษาวิจัยในสัตว์ทดลองกับหนูที่ทำให้เป็นโรค Parkinson's และประสบความสำเร็จในการรักษาในระดับที่น่าพอใจ โดยใช้หลักการของการสร้างเซลล์ที่สามารถผลิตสาร dopamine ทดแทน⁽²⁰⁾ สำหรับการศึกษาวินิจฉัยในมนุษย์นั้นยังไม่มีการศึกษาวิจัยอย่างเป็นทางการชัดเจน นักวิจัยและแพทย์หลายท่านคาดหวังว่าโดย

เทคนิคนี้ร่วมกับการสร้างสายพันธุ์เซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อน จะสามารถนำมาใช้รักษาโรคเรื้อรังหลายชนิดให้หายขาดได้ เช่น โรคเบาหวานชนิดที่1, โรค Parkinson's, โรค Alzheimer's เนื่องจากในปัจจุบันยังคงมีอุปสรรคสำคัญเรื่องแหล่งของเซลล์และเนื้อเยื่อจำนวนจำกัดจากผู้บริจาคที่จะมีลักษณะทางภูมิคุ้มกันที่เข้ากันได้กับผู้รับ⁽²¹⁻²²⁾

นอกจากประโยชน์ในการสร้างเซลล์และเนื้อเยื่อเพื่อการทดแทน (regeneration) แล้วยังสามารถใช้เทคนิคการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสร่วมกับการสร้างสายพันธุ์ของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของมนุษย์ เพื่อประโยชน์ในการศึกษาการเจริญเติบโตและพัฒนาการของมนุษย์ในระยะแรกขงชีวิต (early human development) ทั้งในภาวะปกติและในภาวะที่เป็นโรคต่าง ๆ ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์และเนื้อเยื่อ การติดต่อสื่อสารภายในเซลล์ และระหว่างเซลล์ การสร้างแบบจำลอง (model) ของโรคต่าง ๆ เพื่อคิดค้นยา วิธีการรักษาแบบใหม่ และสามารถทดลองใช้ยาและการรักษาวิธีใหม่ ทั้งในด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัย กับเซลล์และเนื้อเยื่อของมนุษย์ที่สร้างจำลองขึ้นภายนอกร่างกาย ซึ่งจะมีความใกล้เคียงกับเป้าหมายในการรักษาจริงมากกว่าการทดลองในสัตว์ และช่วยลดความเสี่ยงในการทดลองที่อาจเกิดอันตรายร้ายแรงในมนุษย์ได้ รวมทั้งยังสามารถศึกษาถึงผลของสารพิษชนิดและขนาดต่าง ๆ ต่อ เซลล์และเนื้อเยื่อจำเพาะชนิดต่าง ๆ ของมนุษย์ในแบบจำลองที่สร้างขึ้นนี้^(18-19,24)

สำหรับประเด็นด้านจริยธรรมนั้น การสร้างสายพันธุ์ของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของมนุษย์โดยวิธีการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสร่วมกับการใช้เซลล์ไข่ของมนุษย์ อาจสามารถช่วยหลีกเลี่ยงการใช้ตัวอ่อนของมนุษย์ (human embryo) ซึ่งยังต้องการการอภิปรายในวงกว้างและการพิจารณาอย่างละเอียดรอบคอบเพื่อหาข้อสรุปทางจริยธรรมที่เหมาะสมต่อไป⁽²⁴⁻³⁰⁾

สรุป

การใช้เทคนิคการย้ายเปลี่ยนนิวเคลียสระหว่างเซลล์ เพื่อสร้างสายพันธุ์ของเซลล์ต้นกำเนิดตัวอ่อนของ

มนุษย์ โดยมีวัตถุประสงค์ในการสร้างเซลล์และเนื้อเยื่อทดแทนขึ้นเพื่อการรักษานั้น นับเป็นความหวังใหม่สำหรับการรักษาโรคเรื้อรังและภาวะความเสียหายที่เกิดความชราภาพ หรือการบาดเจ็บหลายชนิดในมนุษย์ให้หายขาดได้ หรือเพื่อบรรเทาความรุนแรงของโรค เซลล์หรือเนื้อเยื่อที่สร้างขึ้นนี้จะเป็แบบจำลองที่ดีเพื่อใช้ในการศึกษากลไกการเกิดโรค ตลอดจนใช้ในการทดลองวิจัยต่าง ๆ สำหรับการนำเซลล์และเนื้อเยื่อที่สร้างขึ้นมาใช้กับผู้ป่วยจริงในทางคลินิกนั้น ยังคงต้องรอผลการศึกษาวิจัยเพิ่ม เดิมทั้งในด้านประสิทธิภาพและความปลอดภัยในระยะยาวต่อไป

อ้างอิง

1. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998 Nov 6; 282(5391):1145-7
2. Amit M, Itskovitz-Eldor J. Derivation and spontaneous differentiation of human embryonic stem cells. *J Anat* 2002 Mar;200 (Pt 3):225-32
3. Cowan CA, Klimanskaya I, McMahon J, Atienza J, Witmyer J, Zucker JP, Wang S, Morton CC, McMahon AP, Powers D, et al. Derivation of embryonic stem-cell lines from human blastocysts. *N Engl J Med* 2004 Mar 25; 350(13):1353-6
4. Perry AC. Progress in human somatic-cell nuclear transfer. *N Engl J Med* 2005 Jul 7;353(1): 87-8
5. Drukker M, Benvenisty N. The immunogenicity of human embryonic stem-derived cells. *Trends Biotechnol* 2004 Mar;22(3):136-41
6. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ,

- Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997 Feb 27;385(6619):810-3
7. Rhind SM, Taylor JE, De Sousa PA, King TJ, McGarry M, Wilmut I. Human cloning: can it be made safe? *Nat Rev Genet* 2003 Nov; 4(11):855-64
8. Hochedlinger K, Jaenisch R. Nuclear transplantation, embryonic stem cells, and the potential for cell therapy. *N Engl J Med* 2003 Jul 17;349(3):275-86
9. Lanza RP, Cibelli JB, West MD. Human therapeutic cloning. *Nat Med* 1999 Sep;5(9):975-7
10. Spemann H. *Ver Deutsch Zool Ges Leipzig (Freiburg)* 1914;24:216-221
11. Gurdon JB, Laskey RA, Reeves OR. The developmental capacity of nuclei transplanted from keratinized skin cells of adult frogs. *J Embryol Exp Morphol* 1975 Aug;34(1):93-112
12. Cibelli JB, Stice SL, Golueke PJ, Kane JJ, Jerry J, Blackwell C, Ponce de Leon FA, Robl JM. Transgenic bovine chimeric offspring produced from somatic cell derived stem-like cells. *Nat Biotechnol* 1998 Jul;16(7):642-6
13. Munsie MJ, Michalska AE, O'Brien CM, Trounson AO, Pera MF, Mountford PS. Isolation of pluripotent embryonic stem cells from reprogrammed adult mouse somatic cell nuclei. *Curr Biol* 2000 Aug 24;10(16):989-92
14. Kawase E, Yamazaki Y, Yagi T, Yanagimachi R, Pedersen RA. Mouse embryonic stem (ES) cell lines established from neuronal cell-derived cloned blastocysts. *Genesis* 2000 Nov-Dec;28(3-4):156-63
15. Wakayama T, Perry AC, Zuccotti M, Johnson KR, Yanagimachi R. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature* 1998 Jul 23;394(6691):369-74
16. Wakayama T, Tabar V, Rodriguez I, Perry AC, Studer L, Mombaerts P. Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer. *Science* 2001 Apr 27;292(5517):740-3
17. Cibelli JB, Lanza RP, West MD, Ezzell C. Somatic cell nuclear transfer in human: Pronuclear and early embryonic development. *J Regen Med* 2001;26:25-31
18. Hwang WS, Roh SI, Lee BC, Kang SK, Kwon DK, Kim S, Kim SJ, Park SW, Kwon HS, Lee CK, et al. Patient-specific embryonic stem cells derived from human SCNT blastocysts. *Science* 2005 Jun 17;308(5729):1777-83
19. Hwang WS, Roh SI, Lee BC, Kang SK, Kwon DK, Kim S, Kim SJ, Park SW, Kwon HS, Lee CK, et al. Patient-specific embryonic stem cells derived from human SCNT blastocysts. *Obstet Gynecol Surv* 2005 Sep;60(9):587-9
20. Barberi T, Klivenyi P, Calingasan NY, Lee H, Kawamata H, Loonam K, Perrier AL, Bruses J, Rubio ME, Topf N, et al. Neural subtype specification of fertilization and nuclear transfer embryonic stem cells and application in parkinsonian mice. *Nat Biotechnol* 2003 Oct;21(10):1200-7
21. Assady S, Maor G, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Skorecki KL, Tzukerman M. Insulin production by human embryonic stem cells. *Diabetes* 2001 Aug;50(8):1691-7
22. Street CN, Rajotte RV, Korbitt GS. Stem cells: a

- promising source of pancreatic islets for transplantation in type 1 diabetes. *Curr Top Dev Biol* 2003;58:111-36
23. Jaenisch R. Human cloning - the science and ethics of nuclear transplantation. *N Engl J Med* 2004 Dec 30;351(27):2787-91
24. Tong WF, Ng YF, Ng SC. Somatic cell nuclear transfer (cloning): implications for the medical practitioner. *Singapore Med J* 2002 Jul;43(7):369-76
25. Birmingham K. The move to preserve therapeutic cloning. *J Clin Invest* 2003 Dec; 112 (11):1600-1
26. Caulfield T, Sheremeta L, Daar AS. Somatic cell nuclear transfer—how science outpaces the law. *Nat Biotechnol* 2003 Sep;21(9):969-70
27. Shenfield F. Semantics and ethics of human embryonic stem-cell research. *Lancet* 2005 Jul 7;365(9477):2071-3
28. Devolder K. Human embryonic stem cell research: why the discarded-created-distinction cannot be based on the potentiality argument. *Bioethics* 2005 Apr;19(2):167-86
29. Holm S. Embryonic stem cell research and the moral status of human embryos. *Reprod Biomed Online* 2005 Mar;10 Suppl 1:63-7
30. Cregan K. Ethical and social issues of embryonic stem cell technology. *Intern Med J* 2005 Feb;35(2):126-7