



**ORIGIN OF MARROW-DERIVED HUMAN MESENCHYMAL
STEM CELL (MSC) IN SEVERE THALASSEMIC PATIENTS
FOLLOWING ALLOGENIC BONE MARROW
TRANSPLANTATION**

SAWANG PETVISES

อธิปัทนการ

จาก

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(CLINICAL PATHOLOGY)**

**FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2001

ISBN 974-665-388-1

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

4137128 RACP/M : MAJOR : CLINICAL PATHOLOGY ; M.Sc.(CLINICAL PATHOLOGY)

KEY WORDS : MESENCHYMAL STEM CELL / THALASSEMIA / TRANSPLANTATION / OSTEOPOROSIS / STR / FISH

SAWANG PETVISES: ORIGIN OF MARROW-DERIVED HUMAN MESENCHYMAL STEM CELL (MSC) IN SEVERE THALASSEMIC PATIENTS FOLLOWING ALLOGENIC BONE MARROW TRANSPLANTATION. THESIS ADVISORS: SUNTAREE APIBAL M.Sc., SURADEJ HONGENG M.D., BUDSABA RERKAMNUAYCHOKE D.M.Sc., SURAPON WORAPONGPAIBOON M.D. 80 P. ISBN 974-665-388-1

Human marrow-derived mesenchymal stem cell (MSC) can be differentiated into multiple mesenchymal cell lineages such as bone, cartilage, tendon, muscle, adipose tissue, and marrow stroma. Horwitz et al. (1999) reported that 1-2.5% of donor mesenchymal cells were found in the host bone marrow of osteogenesis imperfecta children patients after allogenic bone marrow transplantation. Osteoporosis also emerged as a major cause of mortality in severe thalassemic children patients due to the over expansion of erythroid lineage and involvement of bone formation suppression. However, osteoporosis in severe thalassemic patients is absent following stem cell transplantation.

The objective of this study was to define the origin of marrow-derived MSCs in severe thalassemic patients in post stem cell transplantation.

MSCs from the bone marrow of 4 severe thalassemic children patients in post stem cell transplantations were cultured and expanded *in vitro* to define their origin by short tandem repeat (STR) polymorphism and fluorescence *in situ* hybridization(FISH) analyses. Phenotypic analysis of mesenchymal stem cell was studied by flow cytometry.

Phenotypic analysis by flow cytometry revealed that the culture-expanded MSCs were negative for the expression of CD14, CD34, CD45, CD41, and HLA-DR. STR analysis was performed in MSCs from 3 patients with sex-matched donors. The results showed host origin. FISH was performed for detection of XY chromosome in one female patient with a sex-mismatched donor. There was 0.79% donor MSCs showed XY chromosomes while the base line cut off of the XY probe was 2.6%. This data suggests that the MSCs were host origin, and donor MSCs could not engraft in bone marrow of severe thalassemic patients following stem cell transplantation.

4137128 RACP/M: สาขาวิชา: พยาธิวิทยาคลินิก; วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

สว่าง เพชรวิเศษ : ต้นกำเนิดของ MESENCHYMAL STEM CELL ในไขกระดูกของผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียหลังทำการปลูกถ่ายไขกระดูก (ORIGIN OF MARROW-DERIVED HUMAN MESENCHYMAL STEM CELL (MSC) IN SEVERE THALASSEMIC CHILDREN PATIENTS FOLLOWING ALLOGENIC BONE MARROW TRANSPLANTATION) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สุนทรี อภิบาล, วท.ม.(พยาธิวิทยาคลินิก) , สุรเดช หงส์อิง, พบ., บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค, D.M.Sc., สุรพล วรพงศ์ไพบุณย์, พบ. 80 หน้า. ISBN 974-665-388-1

Mesenchymal stem cell จากไขกระดูกของคนสามารถเปลี่ยนรูปไป mesenchymal cell ชนิดต่างๆได้หลายชนิด เช่น กระดูก กระดูกอ่อน เอ็น กล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมัน และ สโตรมาของไขกระดูก ในปี ค.ศ. 1999 Horwitz และคณะได้รายงานว่าพบ mesenchymal cell ของผู้บริจาคในไขกระดูกของผู้รับหลังการทำการปลูกถ่ายไขกระดูกในคนไข้เด็กที่เป็นโรค ออสติโอเจนซิส อิมเพอร์เฟกตา ซึ่งเป็นโรคกระดูกพรุนแต่กำเนิด ภาวะกระดูกพรุนสามารถพบได้บ่อยและเป็นสาเหตุหลักของการตายในคนไข้เด็กที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงเนื่องจากมีเพิ่มจำนวนการสร้างของเม็ดเลือดมากเกินไปทำให้เกิดการสร้างกระดูก อย่างไรก็ตามหลังจากทำการปลูกถ่ายไขกระดูกพบว่าภาวะกระดูกพรุนหายไป การศึกษานี้ได้ทำการเพาะเลี้ยง mesenchymal stem cell จากไขกระดูกของคนไข้เด็กที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงจำนวน 4 ราย หลังการทำการปลูกถ่ายไขกระดูกเพื่อดูต้นกำเนิดโดยวิธีการวิเคราะห์ความหลากหลายของ STR และ FISH การวัดลักษณะฟีโนไทป์ด้วยเครื่องโฟลซัยโตมิเตอร์พบว่าไม่มี CD14, CD34, CD45, CD41 และ HLA-DR แอนติเจนอยู่บน mesenchymal stem cell การวิเคราะห์ความหลากหลายของ STR ใน mesenchymal stem cell ของผู้ป่วย 3 รายที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกจากผู้บริจาคเพศเดียวกันพบว่ามีต้นกำเนิดเดียวกันกับผู้ป่วย การทำ FISH เพื่อแยกโครโมโซม เอ็กซ์ วายใน mesenchymal stem cell ของผู้ป่วยเด็กหญิง 1 รายที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกจากผู้บริจาคต่างเพศเดียวกันพบว่ามี mesenchymal stem cell ของผู้บริจาคจำนวน 0.79 เปอร์เซ็นต์ในขณะที่ค่า base line ของ probe ที่ใช้เท่ากับ 2.6 เปอร์เซ็นต์ ข้อมูลนี้แสดงให้เห็นว่า mesenchymal stem cell ในผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมียหลังทำการปลูกถ่ายไขกระดูกยังเป็นของตัวเองและ mesenchymal stem cell จากผู้บริจาคไม่สามารถเข้าไปเจริญอยู่ในไขกระดูกของผู้รับได้