پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۷، شماره ۱، بهار ۱۳۹۲، صفحات ۱ تا ۷

مقاله اصلی
(Original Article)

جداسازی و ایمنوفنوتایپینگ سلول‌های اپی‌تلیالی پرده آمنیون

معراج طباطبایی[۱]، امیر حسن زرنانی[۲،۳]، شهره نیکو[۴]، بهاره کشاورزی[۱]، فهیمه رمضانی تهرانی[۵]، سهیلا عارفی[۶]، ابراهیم میرزادگان[۲]، نریمان مصفا[*۱]

[۱] گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
[۲] مرکز نانو بیوتکنولوژی، پژوهشگاه ابن سینا
[۳] مرکز تحقیقات ایمونولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
[۴] گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران
[۵] مرکز تحقیقات اندوکرینولوژی تولیدمثل، دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی
[۶] مرکز تحقیقات باروری پژوهشگاه ابن سینا

چکیده

سابقه و هدف: *سلول‌های اپیتلیال پرده آمنیون (hAECs) جمعیت هتروژنی با توانایی تمایز به سه رده سلولی لایه ژرمینال هستند. هدف این مطالعه بهبود روش‌های جداسازی و اینمونوفنوتایپینگ سلول‌های بنیادی تخلیص شده با استفاده از پنلی از آنتی‌بادی‌های ضد مارکرهای بنیادی بود.*

روش بررسی: *چهار واحد جفتی از مادرانی که تحت جراحی سزارین انتخابی بوده و هنوز نه ماه بارداری کامل نشده بود تهیه گردید و در شرایط استریل و با حفظ زنجیره سرمایی به آزمایشگاه منتقل شد. پرده آمنیون به صورت مکانیکی از لایه کوریون جدا شده و با استفاده از trypsin- EDTA هضم آنزیمی گردید و سوسپانسیون سلولی به دست آمده جمع آوری شد و پس از چند بار شستشو با استفاده از مارکر اپیتلیالی سایتوکراتین از لحاظ درصد خلوص بررسی گردید. سپس سلول‌های به دست آمده از نظر بیان مارکرهای CD29, CD9, CD34, CD45, CD44, CD133, CD73, CD105, CD38, CD10 MHC-I, MHC-II, HLA-G, SSEA-4, STRO و OCT-4 با استفاده از فلوسایتومتری مورد بررسی قرار گرفت.*

یافته‌ها: *تعداد ۸۰-۱۳۰ میلیون سلول، بسته به کیفیت و اندازه پرده آمنیون از هر واحد جفتی به دست آمد. بیان ۹۰ درصدی مارکر سایتوکراتین نشان دهنده درصد خلوص بالای این سلول‌ها بود. بررسی فلوسایتومتری سلولها نشان داد این سلول‌ها از نظر بیان مارکرهای CD9, CD10, CD29, CD73, CD105, HLAI, HLA-G, OCT-4, SSEA-4 وSTRO مثبت بوده که نشان دهنده بنیادی بودن این سلول‌ها می باشد. این سلولها از نظر بیان مارکرهای CD34, CD38, CD44, CD45, HLA-DR و CD133 منفی بودند.*

نتیجه‌گیری: *نتایج حاصل از ایمونوفنوتایپینگ نشان داد که سلول‌های hAECs مارکرهای زیادی را بیان می‌کنند که با سلول‌های بنیادی جنینی مشترک می باشد و به نظر می‌رسد که بتوان به عنوان منبع جدیدی از سلول‌های بنیادی در کاربردهای درمانی استفاده شود.*

واژگان کلیدی: *جفت، سلول بنیادی، پرده آمنیون، سلول اپیتلیال.*

مقدمه

جفت انسان از سه لایه تشکیل شده است: آمنیون، کوریون و دسی جوا. آمنیون از جنین مشتق شده و دارای خصوصیات پرتوانی می باشد (۱،۲). سلول‌های اپیتلیال و سلول‌های استرومایی سلول‌های اصلی موجود در لایه آمنیون می‌باشند. سلول‌های اپیتلیال پرده آمنیون سلول‌های صاف و مکعب مسطح هستند که در تماس مستقیم با مایع آمنیوتیک هستند (۳). این

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه ایمونولوژی، خانم دکتر نریمان مصفا (**e-mail:** narimmanmosaffa@gmail.com)
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۲/۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۳/۶

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

سلول‌ها قدرت خود تکثیری داشته و قادرند به سه رده جنینی اکتودرم، آندودرم و مزودرم تمایز یابند. به علاوه قدرت تکثیر بالایی داشته و از لحاظ بیان مارکرهایی مثل OCT-4 و SSEA-4 که اختصاصی سلول‌های پرتوان هست، مثبت می‌باشند (۱،۴،۵). همچنین سلول‌های hAECs ایمونوژنیسیته پایینی داشته و دارای خصوصیات تعدیل‌گری سیستم ایمنی هستند که باعث شده این سلول‌ها در مهندسی بافت از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شوند (۶).

گزارش شده است hAECs به واسطه ویژگی تمایزشان هنگامی که به بافت مشخصی پیوند می‌شوند مولکول‌های اختصاصی ارگان را بیان می‌کنند (۷،۸). همچنین نشان داده شده است که hAECها تحت شرایط اختصاصی به سلول‌های عصبی تمایز می‌یابند که قادر به تولید و آزاد سازی نوروترانسمیترهایی مثل استیل کولین، نوراپی نفرین و دوپامین هستند (۹،۱۰).

سلول‌های hAECs به آسانی در دسترس هستند و این مزیت اصلی این سلول‌ها نسبت به سایر سلول‌های بنیادی می‌باشد. جفت و پرده آمنیون به طور معمول هنگام تولد دور انداخته شده می‌شوند. بنابراین این سلول‌ها به آسانی و با هزینه کمی در دسترس هستند و مهم‌تر از همه مسایل اخلاقی و مذهبی که در کار با اکثر سلول‌های بنیادی از جمله سلول‌های بنیادی جنینی مشکل ساز هست در رابطه با سلول‌های hAECs مطرح نمی‌باشد. با توجه به مطالب مذکور چنین بر می‌آید که hAECs می‌تواند به عنوان منبع مفید و قابل اطمینانی برای درمان‌های بالینی آینده مطرح باشد (۱۱). بنابراین ما بر آن شدیم در این تحقیق روش‌های جداسازی و کشت hAECs را استاندارد سازی کرده و مارکرهای بیان شده توسط این سلول‌ها را با استفاده از فلوسایتومتری بررسی نماییم.

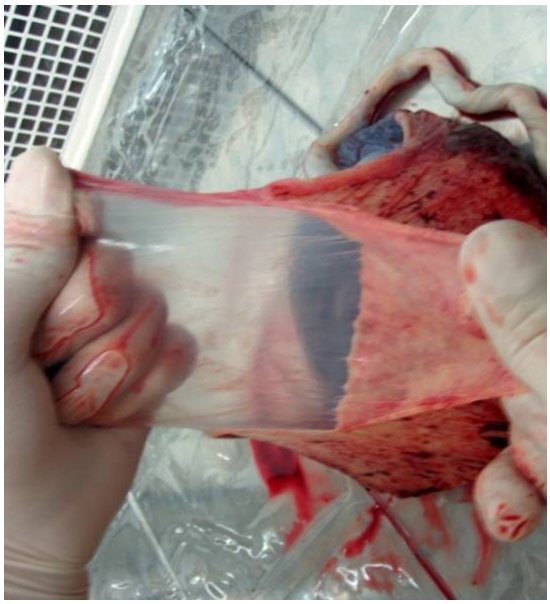
مواد و روشها

مواد و آنتی بادی‌ها

در این مطالعه تجربی، آنتی‌بادی مونوکلونال کونژوگه شده با FITC ضد سایتوکراتین‌های CD9, CD34, CD38, HLA-II و HLA-G؛ آنتی‌بادی مونوکلونال کونژوگه شده با PEضدCD29, CD44, CD133, SSEA-4, CD10, CD73 و HLA-I (BD, San Jose, CA, USA)؛ آنتی‌بادی ضد CD105 کونژوگه شده با PE و آنتی بادی غیرکونژوگه ضد STRO-1(R&D-USA)؛ آنتی بادی گوسفندی ضد موش کونژوگه با FITC (پژوهشگاه ابن سینا- ایران)؛ آنتی‌بادی پلی‌کلونال ضد OCT-4 و آنتی بادی لایه دوم بزی ضد خرگوشی کونژوگه با FITC (Abcam-USA) مورد استفاده قرار گرفتند. تمامی آنتی بادی های ایزوتایپ از BD-USA خریداری شد -(2-2,3-Bis-methoxy- 4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5 carboxanilide (XTT) و phenazine methosulfate (PMS) (Sigma-USA).



شکل ۱- واحد کامل جفت و پرده‌های کوریون و آمنیون که بهم متصل هستند.



شکل ۲- جداسازی پرده آمنیون از لایه کوریون

واحد جفتی و انتخاب نمونه

واحدهای جفتی از چهار مادر سالم با سن ۲۲ تا ۳۲ هفته که به صورت انتخابی طبق نظر جراح توسط عمل سزارین خاتمه

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

بارداری داشتند و سن بارداری حداقل ۳۶هفته سپری گردیده بود، اخذ گردید. مطالعه تحت نظارت کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و پژوهشگاه ابن سینا انجام گردید. تمامی مادران از حیث عفونت‌های ویروسی بررسی شده و هیچ نوع شواهدی دال بر ناهنجاری‌های مادرزادی و بیماری در مادران و نوزادان وجود نداشت. تمامی مراحل جداسازی و اخذ سلول‌ها تحت شرایط استریل ودر زیر هود لامینار انجام گرفت. شکل ۱ یک واحدکامل مجموعه جفت وضمایم آن به همراه لایه‌های کوریوامنیون را نشان می‌دهد.

جداسازی سلول‌های اپیتلیال پرده آمنیون

واحد جفتی بلافاصله بعد از عمل سزارین داخل ظرف محتوی محیط مناسب شامل فسفات بافرسالین حاوی آنتی بیوتیک پنی سیلین – استرپتومایسین قرار گرفت و با حفظ زنجیره سرمایی به آزمایشگاه منتقل شد. سپس پرده آمنیون به صورت مکانیکی از لایه کوریون جدا گردید (شکل ۲).

پرده آمنیون جدا شده به منظور خارج کردن لخته های خون و سلول‌های مرده دوباره چندین بار با فسفات بافرسالین سرد (PH=7.2) شستشو داده شد (شکل ۳).



شکل ۳- پرده آمنیون پس ازشستشوبابافرفسفات سالین تامرحله حذف لخته های خون وشفافیت کامل

سپس پرده آمنیون شسته شده به ۴ قسمت تقسیم شده و هر قسمت به فلاسک کشت سلول ($75cm^2$) حاوی ۲۰ میلی لیتر ۰/۰۵ TRYPSIN-EDTA درصد (GIBCO,Germany) منتقل گردید و در بن ماری شیکر دار ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید.

در ادامه سوسپانسیون حاصل از هضم آنزیمی از مش (توری) فلزی استیل (300 µm) عبور داده شد تا سلول‌های hAECs جدا شده از پرده آمنیون از قسمت های هضم نشده پرده جدا گردد. تریپسین موجود در سوسپانسیون سلولی عبور داده شده از توری فلزی با افزودن FBS خنثی گردید تا از آسیب بیشتر به سلول‌ها جلوگیری شود. سلول‌های به دست آمده از مرحله اول هضم آنزیمی با استفاده از سانتریفوژ (۳۰۰g) ته نشین شده و بعد از ۲ بار شستشو با محیط کشت کامل (RPMI+10%FBS) از توری مخصوص کشت سلول باسایز ۱۰۰میکرومتر (BD biosciences, USA) عبور داده شد و در فلاسک کشت سلول کشت گردید و در انکوباتور کشت سلول ۳۷ درجه سانتی‌گراد به همراه ۵ درصد CO_2 انکوبه شد. بافت‌های باقیمانده مطابق روش توضیح داده شده در بخش قبلی برای بار دوم و سوم متحمل هضم آنزیمی شدند. در هر مرحله از هضم آنزیمی قطعه کوچکی از پرده آمنیون روی لام قرار داده شده و مورد بررسی قرار می‌گرفت. در صورتی که سلول‌های اخذشده از پرده آمنیون حاوی تعداد زیادی گرانول در سیتوپلاسم باشند و از نظر مورفولوژی شرایط مطلوب را دارا نبودند، برای جلوگیری از هدر رفتن مواد از ادامه کار صرف نظر می‌شد. درصد حیات سلول‌های به دست آمده با استفاده از تست تریپان بلو مورد ارزیابی قرار گرفت. در صورتی که درصد حیات سلولها کمتر از ۸۵٪ بود، سلول‌ها مورد استفاده قرار نمی‌گرفت.

بافت شناسی به کمک رنگ‌آمیزی H&E

نمونه‌های به دست آمده از واحدهای جفتی با استفاده از فرمالین ۱۰ درصد فیکس شد و در بلوک‌های پارافین قرار گرفت. سپس برش‌های با ضخامت µm ۵-۹ تهیه شد و با روش‌های استاندارد رنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین رنگ گردید. این عمل به دلیل اطمینان از صحت عملیات جداسازی پرده امنیون از کوریون باید صورت می‌پذیرفت.

بررسی فلوسایتومتری

ایمونوفنوتایپینگ hAECs ها با استفاده از فلوسایتومتری انجام گردید. بلافاصله بعد از جداسازی، سلول‌های حاصل با استفاده از بافر رنگ آمیزی (2% FBS + PBS) شستشو داده شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بافر رنگ آمیزی به همراه آنتی‌بادی کونژوگه شده با FITC یا PE انکوبه گردید. تمامی مراحل رنگ آمیزی در ۴ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت، به جز آنهایی که اشاره شد. در تمامی تست‌ها از آنتی‌بادی ایزوتیپ به عنوان کنترل منفی استفاده گردید. بیان OCT-4 با استفاده از رنگ آمیزی داخل سلولی انجام گرفت، بدین منظور سلول بعد از شستشو با بافر رنگ آمیزی با استفاده از فرمالین ۴ درصد به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق فیکس گردید و با استفاده از ساپونین ۵ درصد نفوذپذیری سلول افزایش داده شد و آنتی‌بادی اولیه با رقت ۱:۱۰۰۰در ساپونین اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون سلول‌ها ۲ بار

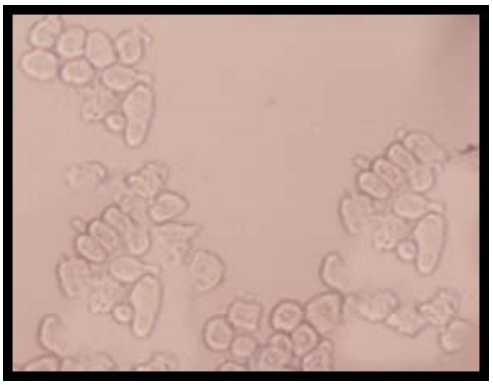
[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

با ساپونین شستشو داده شد و آنتی‌بادی لایه دوم بزی ضد خرگوشی کونژوگه با FITC با رقت ۱:۱۵۰ در ساپونین افزوده شد و برای ۳۰ دقیقه دیگر انکوبه گردید. بعد از اتمام مدت انکوباسیون آنتی‌بادی‌های متصل نشده با استفاده از شستشو خارج گردید و تا زمان قرائت توسط دستگاه فلوسایتومتری در یخ قرار داده شد. برای رنگ آمیزی مارکر سطحی STRO-1، سلول‌ها با آنتی‌بادی موشی ضد STRO-1 انسانی غیرکونژوگه و آنتی بادی گوسفندی ضد موش کونژوگه با FITC هر کدام به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد و بعد از شستشو با استفاده از دستگاه فلوسایتومتری (Partec, Münster, Germany) قرائت گردید.

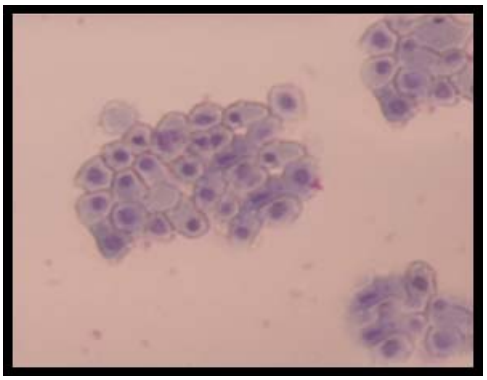
یافته‌ها

جداسازی و رنگ آمیزی سلولهای اپیتلیال پرده آمنیون

حدود $۱۰^۶ \times ۱۳۰-۸۰$ سلول hAECs از هر واحد جفتی جدا شد و خلوص سلول‌های جدا شده با استفاده از درصد بیان سایتوکراتین (اصلی‌ترین مارکر سلول‌های اپی تلیالی) مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان دهنده خلوص خلوص ۹۰ درصدی سلول‌های جدا شده بود.



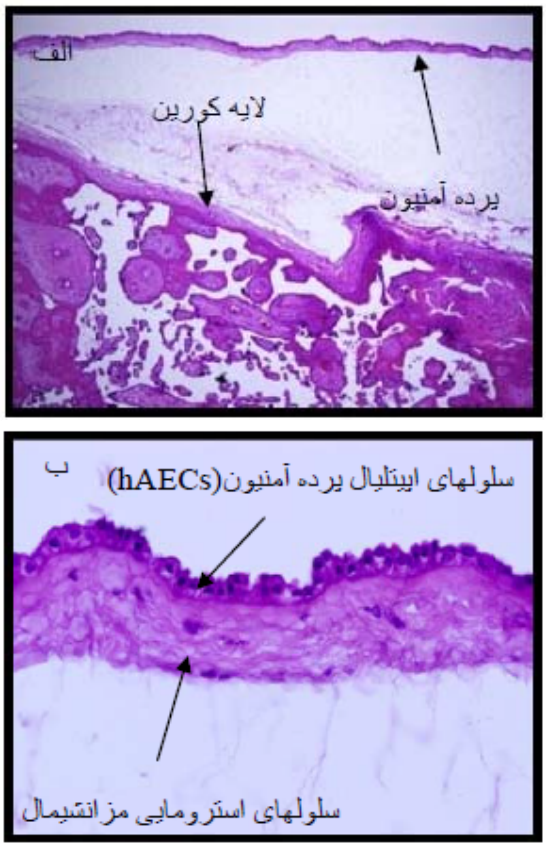
الف



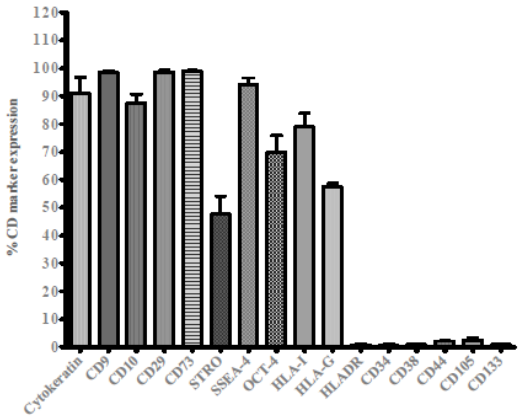
ب

شکل ۴- الف hAEC ها سلول‌های ، مکعبی مسطح هستند. ب- رنگ آمیزی سیگما

بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد hAEC سلول‌های بزرگ بوده و ویژگی بالایی برای اتصال به سطوح پلاستیکی دارند. از تست تریپان بلو برای بررسی درصد حیات سلول‌ها استفاده شد که نشان داد سلول‌های جدا شده دارای درصد حیات ۹۵٪ می‌باشند. سپس رنگ آمیزی گیمسا انجام گرفت (شکل ۴). این مرحله به منظور اطمینان از مورفولوژی سلول‌ها انجام پذیرفت.



شکل ۵- رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین از برش‌های جفتی. الف- آمنیون (بالا) و کوریون (پایین) قابل تشخیص هستند. ب- لایه آمنیون با درشت نمایی بالاتر را نشان می‌دهد که سلول‌های hAEC و سلول‌های مزانشیمال استرومایی به خوبی قابل تشخیص هستند.

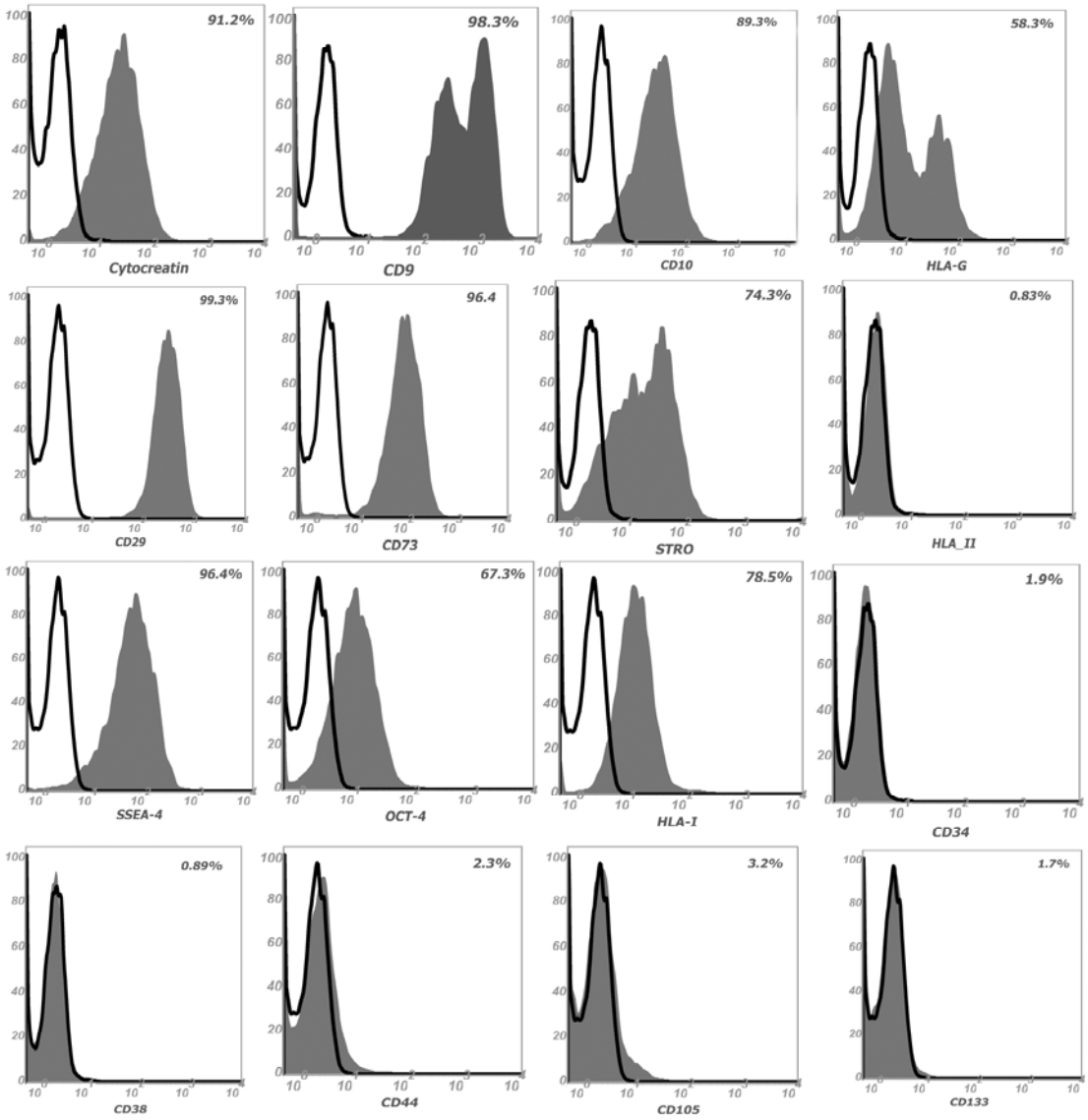


[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

نمودار ۱- درصد بیان مارکرهای سطحی و داخل سلولی توسط hAECها. داده‌ها نشان دهنده mean ± SEM می‌باشند که از ۴ نمونه مختلف به دست آمده‌اند.

ایمونوفنوتایپینگ سلول‌های hAEC

ایمونوفنوتایپینگ سلول‌های اپیتلیال پرده آمنیون با استفاده از تکنیک فلوسایتومتری انجام گرفت. نتایج نشان داد که سلول‌های



نمودار ۲- هیستوگرام‌های مربوط به فلوسایتومتری مارکرهای اختصاصی سلول‌های بنیادی. در هر نمودار نمودار توخالی مربوط به ایزوتیپ کنترل و نمودار خاکستری مربوط به مارکر مورد بررسی می‌باشد.

رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین برشهای بافتی از جفت

برش‌های بافتی از واحد جفتی تهیه شد و پس از پارافین زدایی توسط روش‌های استاندارد رنگ آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین رنگ شد. در مشاهدات میکروسکوپی لایه آمنیون وکوریون قابل مشاهده بودند (شکل ۵-الف). همچنین شکل ۵-ب نشان می‌دهد که لایه آمنیون خارجی‌ترین لایه بوده و حاوی تک لایه سلول‌های hAEC و سلول‌های استرومایی مزانشیمال می‌باشد.

hAEC از نظر بیان مارکرهای سایتوکراتین، CD9, CD10 CD29, CD73, CD105, HLA-I, OCT-4, STRO-1 مثبت هستند و از نظر بیان مارکرهای CD34 CD38, CD44, CD45, HLA-DR منفی هستند (نمودار ۱).هیستوگرام‌های مربوط به نتایج فلوسایتومتری نیز در نمودار ۲ مشخص میباشد.

بحث

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

در این تحقیق، ویژگی‌های مورفولوژیک و فنوتایپی سلول‌های اپیتلیال پرده آمنیون مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از فلوسایتومتری نشان داد این سلول‌ها از نظر بیان سایتوکراتین، CD9, CD10, CD29, CD73, CD105, HLA-I, HLA-G, OCT-4,SSEA-4, STRO مثبت بوده، ولی مارکرهای ,CD34 CD133 CD38, CD44, CD45, HLA-DR را بیان نمی‌کنند.

از آنجایی که تریپسن قادر است سلول‌های اپیتلیال پرده آمنیون را جدا کند از کلاژناز برای جدا سازی این سلول‌ها استفاده نمی‌شود. زیرا کلاژناز باعث هضم لایه‌های داخلی‌تر نیز می‌شود که خطر آلودگی با سلول‌های مزانشیمال استرومایی را افزایش می‌دهد.

در برخی روش‌های جداسازی، محققین به منظور کاهش آلودگی با گلبول‌های قرمز و سلول‌های مرده، سوسپانسیون سلولی به دست آمده در مرحله اول هضم آنزیمی را مورداستفاده قرارنمیدهند. در دراین مطالعه نیز موردمشابه ملاحظه گردیدبطوریکه حذف سوسپانسیون حاصل از مرحله اول هضم آنزیمی در کاهش گلبولهای قرمز مفید بود، ولی باید دقت کرد زیرا در برخی موارد حدود ۶۰-۷۰ درصد سلول‌ها در مرحله اول از پرده آمنیون جدا می‌شوند. در این صورت دور ریختن سوسپانسیون مرحله اول باعث از دست رفتن سلول‌های مورد نظر خواهد شد. درصورت نیاز به تعداد بیشتری سلول، باید این نکته در نظر گرفته شود.

سایتوکراتین عضوی از خانواده فیلامنت‌های حد واسط بوده و جزء مهمی از سایتواسکلتون می‌باشد که به عنوان شاخصی برای سلول‌های اپیتلیال مطرح است (۱۲). برخی تحقیقات نشان داده‌اند کشت سلول‌های hAEC در محیط‌های کشت اختصاصی سلول‌های اپیتلیال باعث کاهش بیان سایتوکراتین توسط این سلول‌ها می‌شود (۱۳). بررسی‌های فلوسایتومتری نشان داد ۹۰ درصد سلول‌های جدا شده در این تحقیق مارکر سایتوکراتین را بیان می‌کنند که نشان دهنده خلوص بالا و قابل قبول این سلول‌ها می‌باشد.

CD105 که نام علمی ان اندوگلین می‌باشد عضوی از خانواده TGF-β می‌باشد. نشان داده شده است این مارکر سلول‌های اندوتلیال نقش مهمی را در تکامل اولیه سلول‌های هماتوپوئیک دارد و به عنوان شاخص تمایز مطرح می‌باشد (۱۴). نتایج حاصل از کار ما نشان داد سلول‌های جدا شده به میزان ۳-۴ درصد مارکر CD105 را بیان می کنند که با تحقیقات دیگر همخوانی دارد. مطالعات دیگری نشان دادند سلول‌های hAEC در پاساژ ۶ به میزان زیادی مارکر CD105 را بیان می‌کنند (۱۳).

OCT-4 فاکتور نسخه‌برداری منحصر به سلول‌های بنیادی با توان کامل تمایزی می‌باشد و برای تثبیت و نگهداری سلول‌های بنیادی پرتوان در حالت غیر تمایزی ضروری است (۱۵). OCT-4 در طی تمایز سلول‌های بنیادی جنینی کاهش می‌یابد. نشان داده شده است تمایز توده سلول داخلی (Inner Cell Mass) به سلول‌های تروفوبلاستی در مرحله بلاستوسیت با از دست رفتن مارکر OCT-4 همراه می باشد (۱۵). نتایج ما نشان داد سلول‌های hAEC تازه جدا شده به میزان ۶۰-۷۰ درصد مارکر OCT-4 را بیان میکنند و این نشان دهنده توانایی بنیادی بودن این سلول‌ها می‌باشد.

CD34، مارکر اختصاصی سلول‌های بنیادی خون‌ساز می‌باشد. نتایج ما نشان داد سلول‌های جدا شده فاقد CD34 می‌باشند و این نشان می‌دهد سلول‌های جدا شده هیچ آلودگی با سلول‌های بنیادی خون ساز بند ناف ندارد. بر خلاف نتایج ما، برخی محققین (۱،۱۳) این مارکر را به میزان ۳۰-۴۰ درصد مثبت گزارش کرده‌اند که نشان دهنده آلودگی با سلول‌های بنیادی خون بند ناف می‌باشد.

در ارتباط با بیان HLA-I توسط سلول‌های hAEC اختلاف نظرهای بسیاری وجود دارد. برخی محققیق بیان آن را گزارش ننموده اند (۱۶) و برخی دیگر حضور آن را به اثبات رسانده‌اند (۶،۱۷). نتایج ما نشان داد سلول‌های جدا شده بلافاصله بعد از جداسازی از نظر بیان HLA-I مثبت هستند.

CD9 به میزان زیادی در سلول‌های بنیادی جنینی تمایز نیافته بیان می‌شود و نقش مهمی در خودتکثیری این سلول‌ها دارد. در گزارشات Oka et al نشان داده شده است که سلول‌های بنیادی جنینی تمایز نیافته به میزان زیادی CD9 را بیان می‌کنند، ولی این مارکر با تمایز سلول‌های بنیادی کاهش می‌یابد (۱۸). نتایج ما نشان داد سلول‌های جدا شده به میزان ۹۵ تا ۱۰۰ درصد مارکر CD9 را بیان می‌کنند.

محققان بسیاری چنین گزارش می‌نمایند که سلول‌های hAEC از قدرت تکثیر بالایی برخوردارند که در رابطه با بیان بالای مارکر مشترک بنیادی OCT-4 می‌باشد. در این تحقیق، ما الگوی بیان مارکرهای مختلف توسط این سلول‌ها را بررسی کردیم. چنین به نظر می‌رسد این سلول‌ها با داشتن ویژگی‌های متعددی از قبیل دسترسی آسان و ارزان، نداشتن مشکلات اخلاقی و مذهبی، قدرت تکثیر بالا، بیان مارکرهای سلولهای بنیادی و خصوصیت تعدیل ایمنی می‌توانند به عنوان منبع مهم و قابل اطمینانی برای استفاده‌های درمانی در آینده مطرح باشند. کاربرد و جایگزینی این منابع پرارزش جنینی درسلول درمانی بسیاری از اختلالات اعضا و بافت‌های بیماران

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

و به خصوص در حوزه‌های ترمیمی وپزشکی جایگزینی با منابعی همچون سلول‌های مزانشیمی قابل مقایسه و رقابت قرار گرفته است (۶،۱۹) .

REFERENCES

1. Toshio M, Thomas L, Hongbo C, Donna BS. Stem Cell Characteristics of Amniotic Epithelial Cells. Stem Cells 2005; 23: 1549-59.
2. Diwan S, Stevens LC. Development of teratomas from the ectoderm of mouse egg cylinders. J Natl Cancer Inst 1976; 57: 937-42.
3. Sakuragawa N, Kakinuma K, Kikuchi A, Okano H, Uchida S, Kamo I, Kobayashi M, Yokoyama Y. Human amnion mesenchyme cells express phenotypes of neuroglial progenitor cells. J Neurosci Res 2004; 78: 208-14.
4. Zheng Y, Gao ZL, Xie C, Zhu HP, Peng L, Chen JH, et al. Characterization and hepatogenic differentiation of mesenchymal stem cells from human amniotic fluid and human bone marrow: a comparative study. Cell Biol Int 2008; 32: 1439-48.
5. Alviano F, Fossati V, Marchionni C, Arpinati M, Bonsi L, Franchina M, et al. Amniotic membrane is a high throughput source for multipotent mesenchymal stem cells with the ability to differentiate into endothelial cells in vitro. BMC Dev Biol 2007; 7: 11-20.
6. Akle C, Adinolfi M, Welsh KI, Leibowitz S, Mccoll I. Immunogenicity of human amniotic epithelial cells after transplantation into volunteers. Lancet 1981; 2: 1003-1005.
7. Perin L, Giuliani S, Jin D, Sedrakyan S, Carraro G, Habibian R, et al. Renal differentiation of amniotic fluid stem cells. Cell Prolif 2007; 40: 936-48.
8. Liu Z, Feng SW, Li Y, Yao XL, Zhang C. Baculovirus-transduced mouse amniotic fluid-derived stem cells maintain differentiation potential. Ann Hematol 2009; 88: 565-72.
9. Kakishita K, Elwan MA, Nakao N. Human amniotic epithelial cells produce dopamine and survive after implantation into the striatum of a rat model of Parkinson's disease: a potential source of donor for transplantation therapy. Exp Neurol 2000; 165: 27-34.
10. Elwan M, Sakuragawa N. Evidence for synthesis and release of catecholamines by human amniotic epithelial cells. Neuroreport 1997; 8: 3435-38.
11. Mariya P, Paulo NG, Jan D. On the origin of amniotic stem cells: of mice and men. Int J Dev Biol 2010; 54: 761-77.
12. Moll R, Franke WW, Schiller D.L, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell 1982; 31: 11-24.
13. Gomez R, Editor. Human amniotic epithelial cells: isolation and characterisation. Germany: Vb Laufersweiler Verlag, Giessen; 2009.
14. Cho S, Bourdeau A, Letarte M, Zuniga JC. Expression and function of CD105 during the onset of hematopoiesis from Flk1 (+) precursors. Blood 2001; 98: 3635-42.
15. Pesce M, Scholer HR. Oct-4: gatekeeper in the beginnings of mammalian development. Stem Cells 2001; 19: 271-78.
16. Haochuan Li JYN, Sudha N. Immunosuppressive factors secreted by human amniotic epithelial cells. Invest Ophthalmol Visual Sci 2004; 46: 900-908.
17. Banas R, Trumpower C, Bentlejewski C, Marshall V, Sing G. Immunogenicity and immunomodulatory effects of amnion-derived multipotent progenitor cells. Hum Immunol 2008; 69: 321-28.
18. Oka M, Tagoku K, Russell TL, Nakano Y, Hamazaki T, Meyer EM, et al. CD9 is associated with leukemia inhibitory factor-mediated maintenance of embryonic stem cells. Mol Biol Cell 2002; 13: 1274-81.
19. Billc G, Zeisberger SM, Mallik AS, Zimmerman R, Zisch AH. Comparative characterization of cultured human term amnion epithelial and mesnchymal stromal cells for application in cell therapy. Cell Transplant 2008; 17: 955-68.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-02]