

THIẾT LẬP QUY TRÌNH THU NHẬN TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TỪ MÔ MỠ THỎ

Đặng Trần Quân¹, Phan Thành Tiến², Đặng Thị Hà Thanh², Nguyễn Quốc Dũng², Huỳnh Duy Thảo³,
Hoàng KC Hương³, Nguyễn Khánh Hòa³, Nguyễn Thanh Bình³, Trần Thị Thanh Loan¹,
Nguyễn Xuân Hoàng⁴, Lê Chí Linh⁵, Trần Công Toại^{2,3}

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Tế bào gốc trung mô từ mô mỡ ngày càng được quan tâm nghiên cứu và ứng dụng nhiều trong công nghệ mô và y học tái tạo vì những đặc điểm ưu việt và tiềm năng to lớn mà các tế bào này mang lại. Do đó, cần phải có một quy trình hiệu quả để thu nhận các tế bào gốc trung mô từ mô mỡ này để thử nghiệm trên các mô hình động vật trước khi triển khai ứng dụng trên người.

Mục tiêu nghiên cứu: Thiết lập quy trình thu nhận và định danh tế bào gốc trung mô từ mô mỡ thỏ dùng để thử nghiệm trên các mô hình động vật.

Phương pháp nghiên cứu: Thử nghiệm thực nghiệm mô tả. Mô mỡ thỏ được thu nhận trong điều kiện vô trùng và phân lập tế bào gốc trung mô bằng hỗn hợp enzyme collagenase-dispase. Tế bào sau thu nhận được nuôi trong môi trường nuôi cơ bản. Định danh xác định tế bào gốc trung mô dựa vào khả năng bám dính trên chai nuôi, khả năng biệt hóa và sự biểu hiện của các marker cho dòng tế bào gốc trung mô (theo tiêu chuẩn ISCT).

Kết quả: Quần thể tế bào sau lần cấy chuyển thứ 3 được đem đi định danh tế bào gốc trung mô. Đó là các tế bào bám dính vào chai nuôi, có hình thái giống với nguyên bào sợi. Các tế bào này biệt hóa được thành nguyên bào xương, nguyên bào sụn và tế bào mỡ trong điều kiện in vitro và biểu hiện được một số marker đặc trưng cho tế bào gốc trung mô.

Kết luận: Với kết quả nghiên cứu đạt được, chúng tôi đã phân lập và nuôi cấy được tế bào gốc trung mô từ mô mỡ thỏ theo các tiêu chuẩn quốc tế. Đây sẽ là nguồn tế bào phù hợp dùng cho các thử nghiệm trên mô hình động vật sau này.

Từ khóa: tế bào gốc trung mô, mô mỡ thỏ, sự biệt hóa, marker tế bào gốc trung mô

ABSTRACT

ESTABLISH A PROTOCOL USED TO OBTAIN MESENCHYMAL STEM CELLS FROM RABBIT ADIPOSE TISSUE

Đặng Trần Quân, Phan Thành Tiến, Đặng Thị Hà Thanh, Nguyễn Quốc Dũng, Huỳnh Duy Thảo,
Hoàng KC Hương, Nguyễn Khánh Hòa, Nguyễn Thanh Bình, Trần Thị Thanh Loan,
Nguyễn Xuân Hoàng, Lê Chí Linh, Trần Công Toại

* Ho Chi Minh City Journal of Medicine * Vol. 25 - No 1 - 2021: 163-171

Background: Mesenchymal stem cells from adipose tissue are increasingly interested in research and application in tissue technology and regenerative medicine because of their superior features and great potential that these cells bring. Therefore, an efficient protocol is required to obtain mesenchymal stem cells from these adipose tissues for testing in animal models before human application.

¹Bộ môn Mô Phôi – Giải phẫu bệnh, ĐHYD TP. HCM

²Khoa Y, Đại học Quốc Gia TP. HCM

³Bộ môn Mô Phôi – Di truyền, Trường ĐHYK Phạm Ngọc Thạch

⁴Bệnh viện Quận Thủ Đức

⁵Bộ môn Mô Phôi, ĐHYD Cần Thơ

Tác giả liên lạc: BS. Đặng Trần Quân

ĐT: 0989393399

Email: dangtranquan@ump.edu.vn

Objectives: Establish procedures for the acquisition and identification of mesenchymal stem cells from rabbit adipose tissue used for testing on animal models.

Methods: The research method is a descriptive experiment. Rabbit adipose tissue is collected under aseptic conditions and isolated stem cells by a mixture of enzymes collagenase-dispase. Cells that cloned up to the third passage collected and identified as mesenchymal stem cells (according to ISCT criteria). The identification criteria for mesenchymal stem cells are on the surface adhesion of flasks, the differentiation ability, and the expression of mesenchymal stem cell-specific markers.

Results: The cells of the third passages were used to identify as mesenchymal stem cells. They are classified as multipotent cells with mesenchymal tri-lineage differentiation capacity, plastic adherent ability, fibroblast-like morphology and specific markers.

Conclusion: With the results achieved, we have isolated and cultured mesenchymal stem cells from rabbit adipose tissue. They will be a suitable source of cells for later animal modeling experiments.

Keywords: mesenchymal stem cells, rabbit adipose tissue, differentiation, mesenchymal stem cell markers

ĐẶT VẤN ĐỀ

Tế bào gốc trung mô (TBGTM) là nguồn thay thế tế bào gốc trưởng thành tự thân, có thể thu nhận nhiều lần với số lượng lớn mà rất ít ảnh hưởng đến sức khỏe của bệnh nhân. TBGTM có khả năng tự đổi mới với khả năng biệt hóa thành các tế bào thuộc dòng trung mô bao gồm nguyên bào xương, tế bào mỡ và tế bào sụn trong điều kiện *in vitro* và phát triển thành mô xương, mô mỡ và mô sụn trong *in vivo*. Do đó, TBGTM trở thành nguồn tế bào gốc ứng dụng rất quan trọng trong công nghệ mô và y học tái tạo.

Việc phát hiện sự tồn tại của nguồn tế bào gốc trung mô trong mô mỡ đã mở ra một tiềm năng to lớn trong ứng dụng điều trị. Thứ nhất, mô mỡ là loại mô có nhiều trong cơ thể người, dễ dàng thu nhận, ít xâm lấn nên ít gây đau đớn cho bệnh nhân so với việc thu nhận tủy xương. Lượng TBGTM tự thân cần thiết cho nghiên cứu có thể thu nhận chỉ từ khoảng 1 g mỡ. Hơn nữa, chỉ cần gây mê cục bộ và vết thương có thể lành trong vòng 1 tuần. Nếu mỡ thu nhận từ người cho là mỡ hút hoặc mỡ từ phẫu thuật dưới da thì lượng TBGTM đủ để cấy ghép ngay sau đó mà không cần qua bước nhân sinh khối *ex vivo*. Thứ hai, mô này cũng là nguồn tế bào có thể tự tái tạo lại được trong cơ thể. Thứ ba và quan trọng nhất, nó là nguồn mô ghép tự thân. Ngoài ra, khả năng biệt hóa của TBGTM từ mô mỡ ít chịu ảnh hưởng tuổi của người hiến mô.

Tuy nhiên, việc lấy mô mỡ từ người và phân lập tế bào gốc trung mô để thực hành và sử dụng trong nghiên cứu không phải là chuyện dễ dàng vì có những yếu tố liên quan đến y đức trong thực hành nghiên cứu.

Do đó, chúng tôi tiến hành thực hiện nghiên cứu quy trình phân lập, nuôi cấy và xác định các TBGTM từ mô mỡ thỏ. Từ đó, có thể sử dụng các tế bào gốc này để thực hiện các nghiên cứu trong điều kiện *in vitro* và *in vivo* trên mô hình động vật để làm cơ sở khoa học cho những triển khai nghiên cứu ứng dụng trên người.

ĐỐI TƯỢNG - PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

TBGTM được thu nhận từ mô mỡ thỏ. Có tất cả 5 mẫu mô mỡ thỏ được thu nhận từ 5 thỏ đực khác nhau.

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu thực nghiệm - mô tả. Số thí nghiệm được lặp lại tối thiểu 3 lần độc lập nhau.

Phương pháp thực hiện

Phân lập và nuôi cấy tế bào gốc từ mô mỡ thỏ

Mẫu mô mỡ thỏ được thu nhận trong điều kiện vô trùng. Mô mỡ được đặt trong đĩa petri sạch và rửa với dung dịch PBS (phosphate buffer saline).

Mô mỡ được cắt nhỏ và chuyển vào tuýp 50

ml có nắp đậy, bổ sung hỗn hợp enzyme Collagenase-Dispase (tỉ lệ 1:1, v/v), mẫu mô được ủ ở nhiệt độ 37°C trong thời gian 90 phút. Sau đó ly tâm thu cặn lắng ở đáy chai. Bổ sung môi trường nuôi cơ bản DMEM/F12 có bổ sung 10% FBS (fetal bovine serum) vào tuýp và huyền phù phân cặn lắng ở đáy chai. Lọc phần dịch tế bào qua phễu lọc tế bào (cell strainer, BD Falcon™) với đường kính 70 µM.

Quay ly tâm phần dịch tế bào và thu nhận cặn lắng ở đáy chai. Sau đó bổ sung môi trường nuôi và huyền phù cặn lắng và chuyển vào chai nuôi. Tế bào được nuôi trong chai nuôi T-25 cm² ở nhiệt độ 37°C và 5% CO₂. Môi trường nuôi cơ bản được thay mới mỗi 2 ngày.

Khi tế bào tăng sinh khoảng 80% diện tích bề mặt chai nuôi, các tế bào được cấy chuyển sang chai nuôi mới bằng cách ủ với trypsin/EDTA trong 5 phút ở 37°C. Sau đó bổ sung môi trường nuôi DMEM/F12 có bổ sung 10% FBS và huyền phù để tách tế bào khỏi bề mặt chai nuôi, ly tâm 3000 vòng/phút trong 5 phút, huyền phù cặn trong môi trường nuôi và nuôi ủ trong tủ ấm 37°C, 5% CO₂. Môi trường được thay mới 2 ngày một lần.

Định danh tế bào gốc trung mô

Theo tổ chức The International Society for Cellular Therapy (ISCT) đưa ra các tiêu chuẩn chung để xác định một loại tế bào gốc là TBGTM⁽¹⁾ cần phải thỏa 3 điều kiện sau: thứ nhất, các TBGTM phải là các tế bào có khả năng bám dính khi tiến hành nuôi cấy trên bề mặt chai nuôi. Thứ hai, phải có khả năng biệt hóa thành nguyên bào xương, tế bào mỡ và tế bào sụn trong điều kiện *in vitro*. Thứ ba, các tế bào này phải biểu hiện được các marker bề mặt đặc hiệu cho TBGTM như CD105, CD73 và CD90, không biểu hiện các marker như CD45, CD34, CD14 và HLA-DR. Dựa theo các tiêu chuẩn trên, chúng

tôi đánh giá các tế bào nuôi cấy từ mô mỡ là các TBGTM.

TBGTM sau khi cấy chuyển lần thứ 3 (P3) sẽ được mang đi định danh dựa vào đặc tính bám dính của TBGTM và khả năng biệt hóa thành tế bào sụn, tế bào xương và tế bào mỡ trong điều kiện *in vitro*.

Để đánh giá khả năng bám dính và phát triển trên bề mặt chai nuôi. Quan sát tế bào dưới kính hiển vi đảo ngược và nhuộm tế bào bằng thuốc nhuộm Giemsa để quan sát hình thái và khả năng bám dính của tế bào.

Để đánh giá tiềm năng biệt hóa, tế bào sau lần cấy chuyển thứ 3 sẽ được chuyển lên một chai nuôi mới và nuôi trong môi trường cảm ứng biệt hóa xương (StemPro® Osteogenesis Differentiation Kit), biệt hóa sụn (StemPro® Chondrogenesis Differentiation Kit) và biệt hóa mỡ (StemPro® Adipogenesis Differentiation Kit). Sau 14 ngày nuôi cấy cảm ứng biệt hóa sẽ được quan sát dưới kính hiển vi đảo ngược để đánh giá sự thay đổi về mặt hình thái. Tiến hành nhuộm Alizarin Red để đánh giá khả năng biệt hóa thành nguyên bào xương, nhuộm Alcian blue để đánh giá khả năng tạo sụn và nhuộm Oil red O để đánh giá khả năng tạo mỡ.

Ngoài ra, nhóm nghiên cứu cũng tiến hành đánh giá các marker chuyên biệt của TBGTM. Các tế bào sau lần cấy chuyển thứ 3 sẽ được mang đi tách chiết RNA bằng Easy-Spin™ (iNtRON Biotechnology, Hàn Quốc). Chúng tôi sử dụng RT-PCR để khuếch đại các DNA mục tiêu (PCR Biosystems, Vương quốc Anh) với các đoạn mồi đặc hiệu cho các gen như CD14, CD34, CD45, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106 và glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GADPH) (Bảng 1). Các sản phẩm khuếch đại được quan sát bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1,5% và nhuộm bằng ethidium bromide (Sigma, USA).

Bảng 1: Danh sách các đoạn mồi khảo sát các gen đặc hiệu của TBGTM

Gen	Đoạn mồi (5'-3')		Độ dài sản phẩm PCR (bp)
Gapdh	Mồi xuôi	AGACACGATGGTGAAGGTCG	166
	Mồi ngược	CTTGCCGTGGGTGGAATCAT	

Gen	Đoạn mồi (5'-3')		Độ dài sản phẩm PCR (bp)
CD14	Mồi xuôi	TGCCTAAGGGACTGCCTG	132
	Mồi ngược	CAGGGACCAGGAACGGATT	
CD34	Mồi xuôi	CATCCTGGGCACTACTGGC	115
	Mồi ngược	GCATGTGCAGACTCCTTTCC	
CD44	Mồi xuôi	AGGTTTGGTGAAGACCTGG	162
	Mồi ngược	CTTCCTCCTCTGCCATGAGT	
CD45	Mồi xuôi	CAATTACCTGGACACCTCCTC	221
	Mồi ngược	CTGACAGCTTGAAGCACTTC	
CD73	Mồi xuôi	GAGCTCACGATCCTGCACAC	142
	Mồi ngược	CTTGGCGGATCTGTTGCACT	
CD90	Mồi xuôi	CTCTGTGCTCAGAGACAAGC	135
	Mồi ngược	CCAACCAGTCACAGGGAAAG	
CD105	Mồi xuôi	CGCTCTGGTGCATCTACTCG	108
	Mồi ngược	CGATGCTGTGGTTCGTGCT	
CD106	Mồi xuôi	TCCCCGAATCCAGATCTCTTGC	134
	Mồi ngược	CTCGCTCCTCACCTTCCCAT	

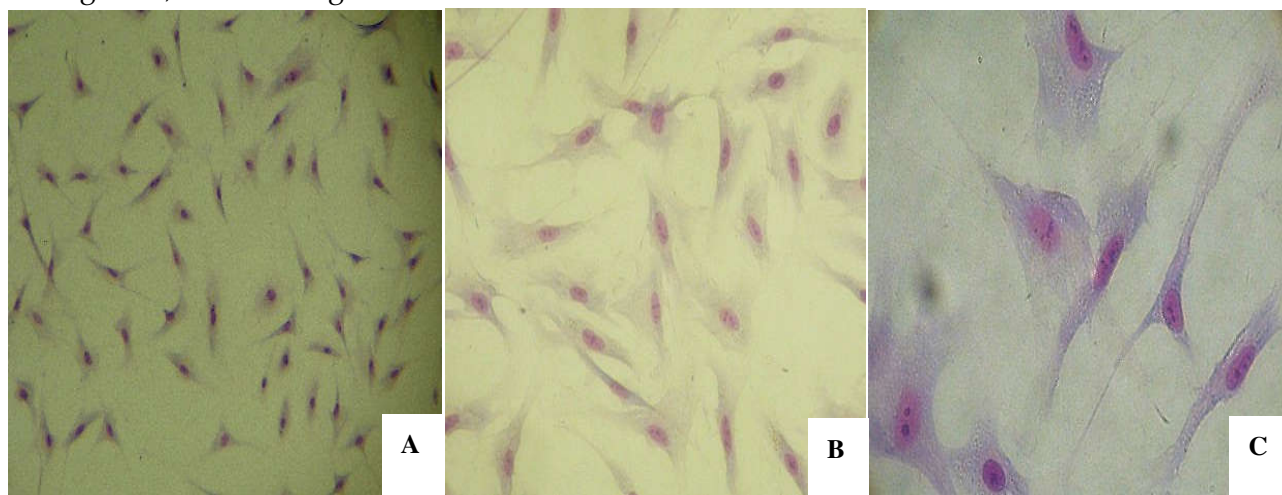
KẾT QUẢ

Phân lập và nuôi cấy tế bào gốc từ mô mỡ thô

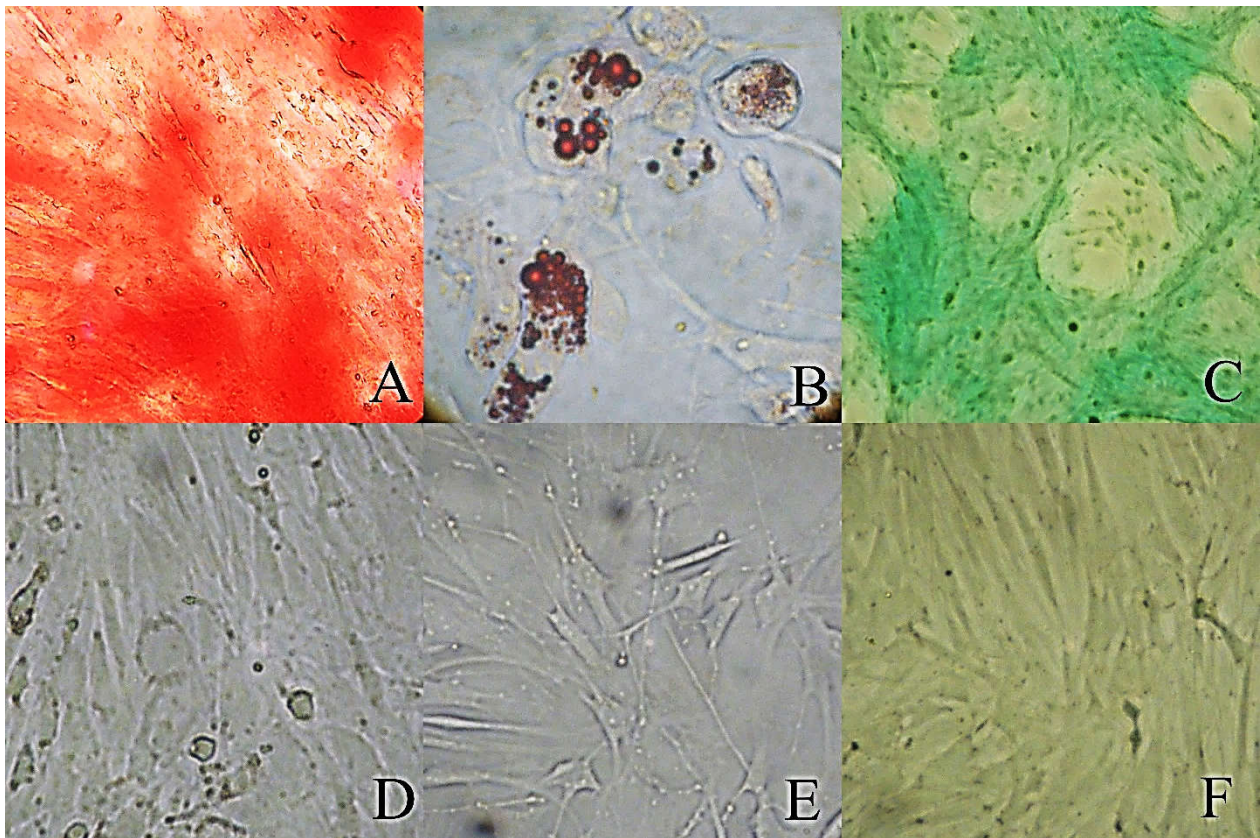
Các tế bào sau khi phân lập từ mô mỡ bắt đầu xuất hiện và bám dính sau hai ngày nuôi cấy trong môi trường nuôi cơ bản. Các tế bào ở dạng riêng lẻ, có dạng hình thoi, thon dài giống với hình thái của nguyên bào sợi (Hình 1). Các tế bào này sau lần cấy chuyển thứ 3 (P3) sẽ được mang đi đánh giá tiềm năng biệt hóa thành các tế bào xương, sụn, mỡ *in vitro* (Hình 2).

Ngoài ra, khi nhóm nghiên cứu theo dõi khả

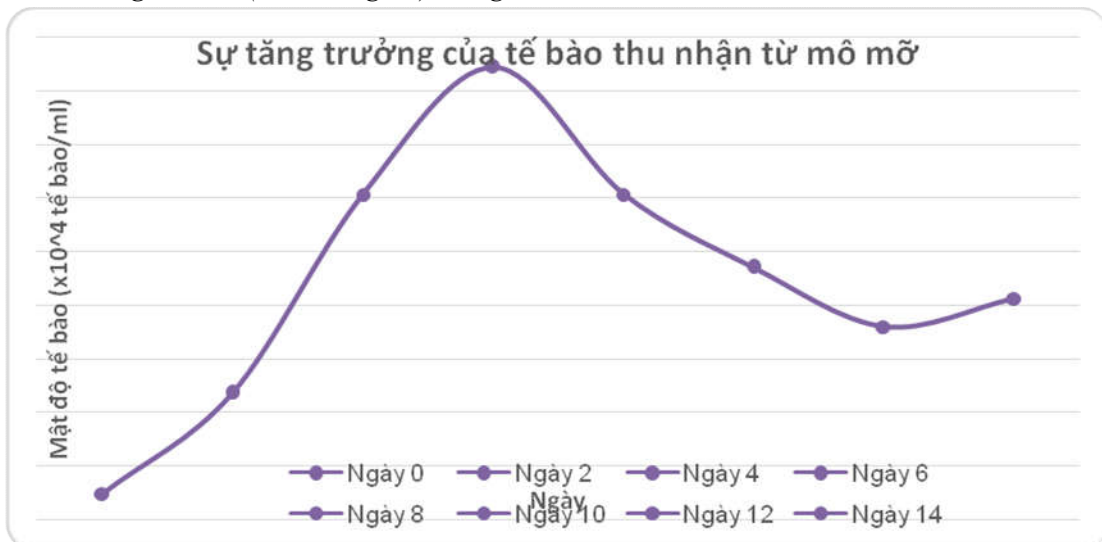
năng tăng trưởng của dòng tế bào này qua kết quả khảo sát đường cong tăng trưởng (Hình 3). Kết quả cho thấy dòng tế bào có đỉnh tăng trưởng trong khoảng thời gian từ 7 – 10 ngày nuôi cấy và sau đó đi vào giai đoạn ổn định từ ngày 14. Kết quả này cũng cho thấy các tế bào thu nhận từ mô mỡ cũng là các tế bào phát triển theo quy luật thông thường của các dòng tế bào nuôi cấy. Do đó, đây cũng là một tiêu chuẩn để đánh giá sự phát triển bất thường của các dòng tế bào nuôi cấy trong *in vitro*.



Hình 1: Tế bào gốc bám dính trên bề mặt chai nuôi. Tế bào gốc sau cấy chuyển F3, hình thái tế bào có hình dạng thon dài, giống với hình dạng của nguyên bào sợi. Tế bào được nhuộm Giemsa và quan sát dưới kính hiển vi đảo ngược, lần lượt ở các vật kính 4X (A), 10X (B) và 40X (C). Đa số tế bào có mang hình thái đặc trưng của hình dạng nguyên bào sợi



Hình 2: Tiềm năng biệt hóa của tế bào gốc trung mô từ mô mỡ. Tế bào gốc sau cấy chuyển F3 được nuôi trong môi trường biệt hóa xương, mỡ và sụn. Sau 14 ngày cảm ứng biệt hóa, hình thái tế bào thay đổi không còn hình dạng thon dài và bắt màu nhuộm đặc trưng của xương, mỡ và sụn. (A) Mẫu tế bào biệt hóa xương nhuộm Alizarin Red, (B) mẫu tế bào biệt hóa mỡ nhuộm Oil Red O, (C) mẫu tế bào biệt hóa sụn nhuộm Alcian Blue. (D), (E), (F) mẫu tế bào không biệt hóa (mẫu chứng âm) không bắt màu nhuộm với Alizarin Red, Oil Red O và Alcian Blue



Hình 3: Đồ thị sự tăng trưởng của tế bào thu nhận từ mô mỡ sau lần cấy chuyển thứ ba. Tế bào sau lần cấy chuyển thứ 3 được mang đi đánh giá khả năng tăng trưởng trong 14 ngày. Kết quả đạt được cho thấy tế bào tăng sinh nhanh từ ngày 2 và đạt đỉnh vào ngày 6, sau đó bắt đầu giảm dần đến ngày thứ 14. Mỗi giá trị đo là số trung bình của 3 lần đo khác nhau lần lượt từ 3 dòng tế bào gốc trung mô khác nhau

Kết quả định danh tế bào gốc trung mô

Sau 14 ngày cảm ứng biệt hóa tế bào bằng môi trường cảm ứng biệt hóa tạo xương, tế bào bắt đầu thay hình thái từ hình dạng thon dài giống với các nguyên bào sợi thành các tế bào có hình thái đa diện và chế tiết chất nền xương, khi nhuộm với thuốc nhuộm Alirazin Red xuất hiện màu cam đỏ sáng màu (Hình 3A). Trong chai nuôi xuất hiện các nốt xương là dạng kết tụ chất nền xương đặc trưng trong trường hợp cảm ứng biệt hóa tạo nguyên bào xương *in vitro*.

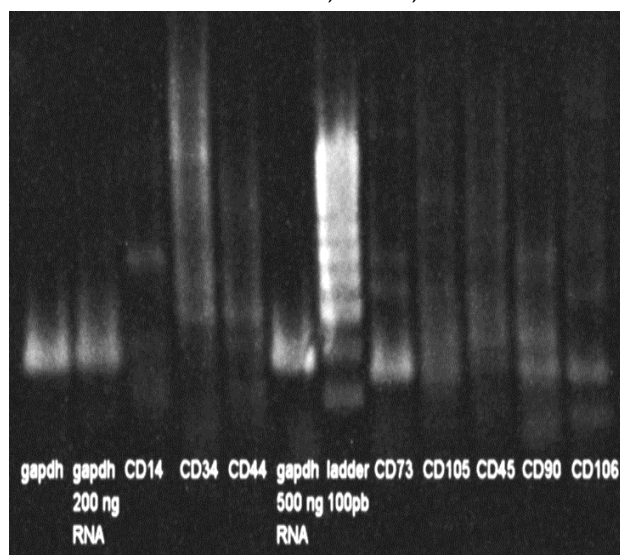
Đối với môi trường cảm ứng biệt hóa tạo mỡ, sau 14 ngày cảm ứng biệt hóa tế bào bằng môi trường tạo mỡ, tế bào cũng thay đổi dần hình thái từ hình dạng thon dài giống với các nguyên bào sợi, các tế bào thường phình to và bắt đầu kết tụ các giọt mỡ bên trong bào tương. Khi nhuộm với thuốc nhuộm Oil Red O thì các giọt mỡ bên trong bào tương bắt màu đỏ đậm sáng màu và thường kết tụ thành mảng/đám bên trong bào (Hình 2B).

Đối với môi trường cảm ứng biệt hóa tạo sụn, sau 14 ngày cảm ứng biệt hóa tế bào bằng môi trường tạo sụn, tế bào cũng thay đổi dần hình thái từ hình dạng thon dài giống với các nguyên bào sợi, các tế bào bắt xuất hiện hình thái đa diện và kết dính chặt với nhau tạo thành lớp đơn và dần xuất hiện các nốt sụn. Khi nhuộm với thuốc nhuộm Alcian Blue thì chất nền xuất hiện màu xanh dương sáng màu đặc trưng của chất nền sụn (Hình 2C).

Tế bào sau lần cấy chuyển thứ ba, sẽ được thu nhận bằng enzyme trypsin-EDTA (0,25% - 0,02%). Sau đó, tế bào sẽ được thu nhận bằng cách quay ly tâm ở tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút. Tế bào sẽ được rửa 2 lần với dung dịch PBS để tinh sạch, các tế bào này sẽ được sử dụng để xác định sự biểu hiện của một số gen đặc trưng của TBGTM bằng phương pháp RT-PCR. Kết quả cho thấy quần thể tế bào thu nhận cho biểu hiện gen dương tính với marker GAPDH, CD73, CD90, CD106 và âm tính với các marker CD14, CD34, CD44, CD105, CD45 (Hình 4).

Như vậy, dựa vào kết quả RT-PCR cho thấy

các tế bào gốc từ mô mỡ thô biểu hiện được các marker đặc trưng của TBGTM theo tiêu chuẩn của ISCT như là CD73, CD90 và CD 103, âm tính với các marker như CD13, CD34, CD45.



Hình 4: Biểu hiện gen của các marker chuyên biệt cho TBGTM. TBGTM sau lần cấy chuyển thứ 3 được mang đi đánh giá biểu hiện gen bằng phương pháp RT-PCR. Kết quả cho thấy quần thể tế bào thu nhận cho biểu hiện gen dương tính với marker GAPDH, CD73, CD90, CD106 và âm tính với các marker CD14, CD34, CD44, CD105, CD45

BÀN LUẬN

Các nghiên cứu trong y sinh học thường phải trải qua các bước nghiên cứu trên mô hình động vật trước khi có thể triển khai ứng dụng kết quả nghiên cứu trên lâm sàng. Đây là một trong những bước cần thiết và bắt buộc để bảo đảm kết quả nghiên cứu an toàn và hiệu quả trên người bệnh. Do đó, việc có được những tế bào đạt tiêu chuẩn quốc tế để có thể triển khai thử nghiệm trên động vật là hết sức cần thiết. Việc thiết lập được quy trình chuẩn hóa và có thể áp dụng thường quy để thu nhận được dòng tế bào gốc trung mô từ mô mỡ với hiệu quả cao rất cần thiết khi thực hiện các nghiên cứu trên mô hình động vật.

Dựa vào kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, quần thể tế bào thu nhận từ mô mỡ thô thỏa mãn các tiêu chí của ISCT. Đó là các tế bào bám dính vào đáy chai nuôi, có hình dạng thon dài

giống với hình dạng của nguyên bào sợi. Các tế bào này có khả năng cảm ứng biệt hóa khi sử dụng môi trường biệt hóa phù hợp thành các dạng tế bào xương, sụn và mỡ trong điều kiện *in vitro*^(2,3,4,5).

Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của tác giả Huỳnh Duy Thảo (2013) khi nhóm nghiên cứu của tác giả này cũng sử dụng tiêu chuẩn ISCT để đánh giá các tế bào gốc trung mô thu nhận từ mô mỡ người⁽⁶⁾. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy các TBGTM thu từ mô mỡ người cũng thỏa mãn các đặc tính đầy đủ của tế bào gốc trung mô. Tuy nhiên, nhóm nghiên cứu của tác giả này sử dụng mỡ chọc hút từ các phẫu thuật thẩm mỹ để tiến hành thu nhận TBGTM khi so sánh với nhóm nghiên cứu của chúng tôi sử dụng mô mỡ thu từ mỡ bụng của thỏ.

Kết quả định danh một số marker chuyên biệt cho TBGTM từ mô mỡ thỏ cũng đã được nhóm nghiên cứu của chúng tôi đánh giá và kết quả thu được cũng cho thấy có sự tương đồng với một số nghiên cứu của các tác giả khác. Kết quả nghiên cứu của nhóm tác giả Dao Thị Thanh Thuy (2017)⁽⁷⁾ cho thấy các TBGTM từ mô mỡ có kiểu hình marker tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Kết quả cho thấy quần thể tế bào mà nhóm nghiên cứu chúng tôi thu nhận có kiểu hình miễn dịch dương tính với marker GAPDH, CD73, CD90, CD106 và âm tính với các marker CD14, CD34, CD44, CD105, CD45. Đây là những marker phổ biến để định danh TBGTM theo tiêu chuẩn của thế giới.

KẾT LUẬN

Với quần thể tế bào gốc thu nhận từ mô mỡ thỏ đã phân lập và nuôi cấy sau lần cấy chuyển thứ ba. Chúng tôi đã đánh giá các chỉ tiêu để xác định cho TBGTM, kết quả cho thấy các tế bào nuôi cấy đều là các tế bào bám dính trên chai nuôi, có hình dạng thon dài đặc trưng cho tế bào gốc trung mô. Thứ hai, quần thể tế bào này có khả năng biệt hóa được thành 3 dòng tế bào khác nhau thuộc nguồn gốc trung mô đó là nguyên bào xương, nguyên bào sụn và tế bào mỡ với phương pháp xác định đáng tin cậy

chúng tỏ tế bào có khả năng biệt hóa được thành các dòng tế bào khác. Thứ ba, chúng tôi đã khảo sát sự biểu hiện của các marker dùng để xác định cho quần thể TBGTM từ mô mỡ, kết quả cho thấy tế bào thu nhận có biểu hiện dương tính với các marker được CD73, CD90 và không có biểu hiện với các marker CD45 và HLA-DR. Đây là các marker phổ biến được chấp thuận để xác định cho các TBGTM.

Như vậy, với kết quả khảo sát khả năng bám dính, tiềm năng biệt hóa và sự biểu hiện các marker bề mặt cho thấy quần thể tế bào nuôi cấy chính là các TBGTM. Đây là nguồn tế bào gốc rất quan trọng và tiềm năng cho các ứng dụng nghiên cứu cơ bản và triển khai thử nghiệm trên các mô hình động vật.

Tuy nhiên, để có thể ứng dụng các tế bào này một cách an toàn và hiệu quả, cần thực hiện thêm các thí nghiệm khác để khảo sát sự an toàn về mặt di truyền cũng như cần khảo sát sự biểu hiện của một số gen ung thư phổ biến khi thực hiện các nghiên cứu nuôi cấy *in vitro* trong thời gian nuôi cấy dài ngày để đảm bảo cho các tế bào này an toàn khi được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

Lời cảm ơn: Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ tài chính từ Đại học Quốc Gia TP. Hồ Chí Minh đã giúp nhóm thực hiện nghiên cứu trên, mã số đề tài B2019-44-01/HĐ-KHCN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Dominici M1, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop Dj, Horwitz E (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4):315-317.
2. Locke M, Windsor J, Dunbar PR (2009). Human adiposederived stem cell: isolation, characterization and application in surgery. *ANZ Surgery Journal*, 79:235-244.
3. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC et al (1999). Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cell. *Science*, 284:143-147.
4. Strem BM et al (2005). Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells. *Keio Journal of Medicine*, 54:132-141.
5. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, et al (2002). Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Molecular Biological Cell*, 13:4279-4295.

6. Huỳnh Duy Thảo, Trần Lê Bảo Hà, Lê Thanh Hùng, Võ Quốc Vũ, Hoàng Kc Hương, Thái Trúc Quỳnh, Trần Công Toại (2013). Nghiên cứu quy trình thu nhận tế bào gốc trung mô từ mô mỡ người hướng đến ứng dụng trong lĩnh vực y học. *Y học Thành phố Hồ Chí Minh*, 17(1):459 - 466.
7. Dao TTT, Vu NB, Pham LH, Van Gia L, et al (2017). *In vitro* production of cartilage tissue from rabbit bone marrow-derived mesenchymal stem cells and polycaprolactone

scaffold. In *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, pp.45-60. *Springer*, Cham.

Ngày nhận bài báo:	30/08/2020
Ngày nhận phản biện nhận xét bài báo:	20/02/2021
Ngày bài báo được đăng:	10/03/2021