

## Үүдэл эсийг хүйн цуснаас ба чөмөгнөөс ялгах аргыг харьцуулан туршсан дүн

**Төслийн удирдагч:** Ж.Оюунбилэг<sup>1</sup>, Б. Мөнхбат<sup>2</sup>  
**Гүйцэтгэгч:** П.Сувд<sup>1</sup>, З.Сайнжаргал<sup>1</sup>, Д.Орхонсэлэнгэ<sup>1</sup>, Б.Энхтуяа<sup>1</sup>, Г.Түвшинжаргал<sup>1</sup>, Л.Алтантуяа<sup>1</sup>, Б.Сайнчимэг<sup>1</sup>, Б.Ичинхорлоо<sup>1</sup>, Э.Мөнгөнчөдөр<sup>1</sup>, Ч.Цэенпил<sup>1</sup>, Д.Батмөнх<sup>1</sup>

1.Нийгмийн эрүүл мэндийн үндэсний төв, 2.Анагаах ухааны хүрээлэн

**Зорилго:** Хүйн цуснаас болон чөмөгнөөс үүдэл эсийг гарган авах, өсгөвөрлөх арга зүйг боловсруулах

### Материал арга зүй:

Бид судалгааны материалдаа шинээр төрсөн хүүхдийн хүйн хураагуур судаснаас авсан цусны дээжнүүд, чөмөгний сорьц, эсийн өсгөврийн тэжээлт орчнууд, антибиотик, трипан хөх, эс тоолох камер, CO<sub>2</sub> инкубатор, биоаюулгүй ажиллагааны кабинет,микроскоп, зэргийг ашигласан.

Хүйн цуснаас болон чөмөгний сорьцоос үүдэл эсийг гарган авч, өсгөвөрлөхдөө дэлхийн олон оронд хэрэглэж буй жишээлбэл “Isolation and culture-expantion methods of mesenchymal stem/progenitor cells from umbilical cord blood”, “a protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse bone marrow” аргуудыг өөрийн орны нөхцөлд туршин шинжилж, зарим нэмэлт өөрчлөлт хийж хэрэглэсэн. Харин хүний чөмөгнөөс үүдэл эсийг ялган, өсгөвөрлөхдөө Оросын эрдэмтэн Смолянинов Александр Борисовичийн боловсруулсан “Isolation of human bone marrow mesenchymal stem cells and evaluation of their osteogenic potential” аргын дагуу хийж гүйцэтгэв.

### Судалгааны ажлын үр дүн

Хүйн цуснаас үүдэл эс гарган авах туршилтыг 18, чөмөгний сорьцоос эс гаргах туршилтыг 1, чөмөгнөөс үүдэл эс гаргах туршилтыг 7 цувралд тус тус хийлээ. Хүйн цусыг 1:1,1:2 болон 1:3 харьцаагаар, чөмөгний биопсийн материалыг 1:5 харьцаагаар 5% үхрийн хээлийн ийлдэстэй /FBS/ фосфатын буфер (PBS) орчноор шингэлэлт хийн харьцуулсан туршилт хийж үзэхэд 2:1 болон 1:1 шингэрүүлэлтээр 15мл-ийн центрфугийн хуруу шилэнд 4мл Ficoll-Paque(d=1.077 g/cm<sup>3</sup>), 10 мл шингэлсэн цус үелүүлэн хийж хурилдуурдан моноклеар эсүүдийг ялган авахад илүү тохиромжтой байв. Хүйн цуснаас үүдэл эс гарган авахад цусны хэмжээнээс хамааран 5x10<sup>6</sup>, 3x10<sup>6</sup>, 2x10<sup>6</sup> эсүүдийг ялган авсан. Чөмөгний материал бага учир гарч байгаа эсийн хэмжээ бага 1x10<sup>6</sup> эсүүдийг ялгасан. 24, 48, 72 цагийн дараа эсийн тэжээлт орчныг бүрэн сольж, эс өсгөвөрлөх савны хананд наалдаагүй /non-adherent/ амьдрах чадваргүй эсүүдийг зайлуулан цаашид 3 хоног

тутам өсгөвөрлөх тэжээлт орчинг сольж эсийн ургалтыг шалгав. 24-48 цаг өсгөвөрлөн тэжээлт орчинг бүрэн сольсны дараа эсийн тооноос хамаарч клон үүсэлт янз бүр байв. 10% ба 20% -ийн үхрийн хээлийн ийлдэс агуулсан тэжээлт орчинд /MEM/Nissue, DMEM/F12, DMEM/Nissue/ эсийн ургалтыг өсөлтийн фактортой болон өсөлтийн факторгүйгээр харьцуулан туршихад өсөлтийн фактор FGF/human fibroblasts growth factor/ нэмсэн орчинд ургаж буй эсийн тоо олон байлаа. Эсийн ургалтыг микроскопоор шалгаж үзэхэд морфологийн хувьд остеобласт, мезенхим эсүүд тодорхой ажиглагдаж байв.

### **Судалгааны дүгнэлт**

- Хүйн цуснаас үүдэл эс гарган авч, шинж чанарыг тодорхойлов. Чөмөгнөөс сорьц авахтай харьцуулахад хүйн цусны сорьц нь олдох боломжтой, ёс зүйн шаардлагыг хангахад дөхөмтэй байна.
- Хүйн цусыг 5% FBS (үхрийн хээлийн ийлдэс) бүхий PBS (фосфатын буфер)-ын уусмалаар 2:1 харьцаагаар шингэлж 15мл-ийн центрфугийн хуруу шилэнд 10 мл шингэлсэн хүйн цусыг 4мл Ficoll-Paque дээр үелүүлэн хийж хурилдуурдах нь моноклеар эсүүдийг ялган авахад тохиромжтой байна.
- 48 цагийн дараа тэжээлт орчин солих нь эс өсгөвөрлөх савны хананд эс наалдахад илүү үр дүнтэй байв.
- 10%-ийн үхрийн хээлийн ийлдэс, 1%-ийн L-глутамин, пенициллин 100U/мл, стрептомицин 1000 U/мл, 2µg/мл FGF(өсөлтийн фактор)бүхий DMEM/F12 орчин хэрэглэх нь манай лабораторийн нөхцөлд дан үхрийн хээлийн ийлдэс хэрэглэснээс илүү эсийн ургалт өгч байв.
- Хүйн цуснаас ялгасан эс нь чөмөгний сорьцоос ялгасан эсүүдтэй харьцуулахад нь ялгасан эсийн тоо хэмжээ, эсийн тэжээлт орчинд ургах чадвар, эсийн амьдрах чадвар зэрэг үзүүлэлтээр илүү байв. Нас барсан донорын чөмөгнөөс үүдэл эс ялган өсгөвөрлөх боломжгүй байлаа. Ийм учраас хүйн цуснаас ялгасан эсүүдийг өсгөвөрлөн үүдэл эсийн шинж чанарыг тодорхойлох туршилтанд ашиглах боломжтой байна.
- Үүдэл эс өсгөвөрлөхөд FBS (ийлдэс)-ээс гадна төрөл бүрийн нэмэлт өдөөгч факторуудыг зайлшгүй ашиглах шаардлагатай байна.
- Бидний боловсруулсан энэхүү протоколын дагуу хүйн цуснаас үүдэл эс гарган авах бүрэн боломжтой байна

## **Үүдэл эсийн физик, хими, биологийн шинж чанарыг судлан тогтоох**

*Г.Түвшинжаргал, Д.Орхонсэлэнгэ, Л.Алтантуяа,  
Б.Сайнчимэг, П.Сувд, Б.Энхтуяа, С.Лхагва, Б.Шинэбаяр  
Нийгмийн Эрүүл Мэндийн Үндэсний Төв*

### **Зорилго**

Хүйн цуснаас гарган авч, өсгөвөрлөсөн үүдэл эсийн физик, хими, биологийн шинж чанарыг судлан тогтоох

### **Материал арга зүй**

Олон төрлийн арга зүйг хэрэглэн үүдэл эсийг таних, шинж чанарыг нь судлах туршилтыг хийж гүйцэтгэв. Үүнд: ФХУ, микроскопоор хэлбэр дүрсийг тогтоох, алкалин фосфатаза ферментийн идэвхийг будах, Биуретийн арга, Гель электрофорез, иммуноэлектрофорез, нуклейн хүчлийг ялгах, УТ-ПГУ

### **Судалгааны ажлын үр дүн**

Судалгаанд авсан хүйн цусны сорьцуудад гепатитын В вирусийн гадаргын эсрэгтөрөгч, гепатитын С вирусийн болон ХДХВ-ийн эсрэгбиеийг ФХУ-ын аргаар шинжлэхэд 1 сорьцод гепатитын В вирусийн гадаргын эсрэгтөрөгч эерэг/+, 3 сорьцод гепатитын С вирусийн эсрэгбие /+эерэг тодорхойлогдсон бол ХДХВ-ийн эсрэгбие огт илрээгүй болно. Үүдэл эсийг гарган авч, өсгөвөрлөх явцад 24-48 цагийн дараагаас эсүүд нь клон үүсгэж эхэлсэн бөгөөд 14 хоногийн турш тогтвортой ургаж байлаа. Эсийг микроскопоор харахад морфологийн хувьд остеобласт эсүүд, мезенхим эсүүд болох тодорхой харагдаж байлаа. Нийт уургийг биуретийн аргаар хүйн цусны ийлдсэнд 5.5%, ялгасан үүдэл эсэд 2.7%-ын уураг агуулагдаж байгааг тодорхойлсон. Иммуноцитохимийн аргаар үүдэл эсийн плурипотент шинжийг илрүүлэхдээ эсийн мембраны алкалин фосфатаза ферментийн идэвхийг NBT/BCIP (nitro-bluetetrazolium/5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate) субстратаар будахад клон хэлбэртэй эсүүд нь хүрэн бор, шардуу өнгийг үзүүлсэн. Үүдэл эсээс РНХ-ийг ялгаж, кДНХ-ийг нийлэгжүүлсэний Sox-2, c-myc, Nanog, Oct3/4 генийн экспрессийг ПГУ-аар илрүүлэхэд Sox-2, c-myc генүүд экспресслэгдсэн. Үүдэл эсийн гадаргуугийн маркер болох CD34, CD45, CD133, KDR-ийн уургуудыг кодлох генийн экспрессийг ПГУ-аар шалгахад 5 сорьцод CD34, 8 сорьцод CD133 тус тус илэрсэн. Үүдэл эсээс ДНХ-ийг ялган микоплазмийг ПГУ-аар тодорхойлоход микоплазмийн халдвар илрээгүй болно.

### **Судалгааны дүгнэлт**

Үүдэл эсийг таних, шинж чанарыг тогтоох туршилтыг 18 цувралд хийв. Хүйн цуснаас үүдэл эс гарган 14 хоног өсгөвөрлөж чадсан болон өсгөвөрлөлтийн явцад эсүүд нь клон үүсгэн ургасан төдийгүй остеобласт эсүүд, мезенхим эсүүд тодорхойлогдсон нь үүдэл эсийг таних шинж чанаруудын нэг үзүүлэлт боллоо. Алкалин фосфатаза ферментийн идэвхээр клон хэлбэртэй эсүүд будагдсан нь үүдэл эс мөн болохыг баталж байна. Генийн транскрипцийн түвшинд үүдэл эсээс ялгасан нуклейн хүчилд CD34, CD133, Sox-2, c-тус генүүд экспресслэгдсэн. Түүнчлэн эсэд микоплазмийн халдвар илрээгүй нь манай судалгаа лабораторийн ариун нөхцөлд хийгдсэн болохыг харуулж байна.

## **“Хүний үүдэл эсийг эмчилгээ, оношлогоонд хэрэглэх арга зүй”**

*С.Цоодол, Л.Төмөрхүү, Д.Оюунгэрэл,Ж.Оюунбилэг  
Нийгмийн эрүүл мэндийн үндэсний төв*

### **Үндэслэл**

Үүдэл эсийг олон улсын практикт эмчилгээ, оношлогоонд өргөн ашиглах болсон. Эрдэм шинжилгээний энэхүү амжилт нь чихрийн шижин, зүрх судасны өвчнүүд, хавдар, өндөр насны кретинизм, паркинсон зэрэг өвчнөөр өвчлөгсдийн эмчилгээнд үр дүнгээ өгч улмаар хүн эмээр юмуу мэс заслаар эмнэх боломжгүй өвчин эмгэгийг анагаах, эдгээх боломж бүрдэж байгаа юм. АНУ-ын анагаахын эс судлалын хүрээлэнд хийсэн судалгаагаар зүрхний дутагдал бүхий өвчтөнд үүдэл эсийн эмчилгээ хийсний дараа бүрэн сэргэлт бий болсон мэдээ байна. Мөн АНУ-ын Калифорны их сургуулийн профессор Рональд Мицүясу тэргүүтэй эрдэмтэд ДОХ өвчнийг ангаахад гены эмчилгээг ашигласан клиникийн туршилтуудын нэг нь итгэл төрүүлэхээр үр дүнд хүрсэн байна. Энэхүү туршилтанд 74 өвчтөнд хийсэн гений эмчилгээний үр дүнд дархлалын системд үзүүлж буй вирусийн үйлчлэл буурсан үр дүн гарчээ. Манай улсын хувьд үүдэл эсийн талаар эрүүл мэндийн салбарт дорвитой хийсэн судалгаа одоогоор байхгүй байгаа болно. Иймд үүдэл эсийг эмчилгээ оношлогоонд хэрэглэх арга замыг судлах зайлшгүй шаардлагатай байна.

### **Зорилго**

Хүний үүдэл эсийг эмчилгээ, оношлогоонд хэрэглэх арга зүйг судлан үүдэл эсийн технологийг Монголд хөгжүүлэх талаар зөвлөмж гаргах

### **Материал, арга зүй**

Үүдэл эсийг гарган авах ба эмчилгээнд хэрэглэсэн үр дүн, ёс зүй, эрх зүйн асуудлууд, үүдэл эсийн технологийн талаар хэвлэлийн материалыг харьцуулан судлаж дүгнэлт хийсэн.

### **Үр дүн**

Эд эрхтэний ялгаран хөгжиж төрөлжөөгүй эсийг үүдэл эс /stem cell/ гэж нэрлэдэг. Үр хөврөлийн үед бий болсон бластоцитийн дотоод эс хөгжлийн явцад митоз хуваагдлаар хуваагдан улмаар төрөлжсөн эсүүд, жишээ нь арьсны, зүрхний, цусны гэх мэт эсүүд бий болдог. Энэхүү үүдэл эсийг хөврөлийн үүдэл эс гэж нэрлэдэг. Харин төрөлжсөн эдийн зарим эс үр хөврөлийн эсийн адил төрөлжөөгүй, хуваагдалгүй олон жил үлдэж болох ба эдгээрийг бие гүйцсэн /adult/, эсвэл соматик үүдэл эс гэдэг. Төрөлжөөгүй үүдэл эсээс тухайн эрхтэний эс бий болгоход чухам ямар ген ажилладаг, ямар факторууд шаардлагатай байдаг талаар эрдэмтэд ихээхэн судалгаа хийж байна. Түүнчлэн зарим эсийг дахин программчлах замаар үүдэл эс болгож, түүнээсээ эд эрхтэний эс бий болгох чиглэлээр ч ажиллаж байна.

Үүнийг induced pluripotent stem cell /iPS/ буюу өдөөгдсөн үүдэл эс гэдэг. Тухайлбал хүний арьсны эсийн генетикийн программыг өөрчилж түүнийг үүдэл эс /хөврөлийн/ болгоход уг эс цаашид төрөл бүрийн эрхтэний эс болон төрөлжих боломжтой. Өдөөгдсөн үүдэл эсийг хүний өөрийн эснээс гарган авч ургуулан буцаан ашиглах тул эрхтэн бусад хүний эсийн адил эрхтэн тохиргооны асуудал үгүй тул эмчилгээний ихээхэн ач холбогдолтой. Үүдэл эсийн өөрийн мөн чанар нь өвчилсөн, хөгширсөн эсийг шинэчлэж байх үүрэгтэй тул судлаачид энэ шинжээр нь эмчилгээ болгон ашиглах болсон. Энэ санаа нь үүдэл эсийг, эсвэл хувирч буй үүдэл эсийн эмчилгээний шинж чанарыг ашиглан өвчтөний биед суулгах явдал юм. Үүдэл эсийг ашиглан цусны судасны гэмтлийг эмчлэх, тархины гэмтсэн эсийг нөхөх, цусны хавдарын эмчилгээ, эрхтэн шилжүүлэн суулгах зэрэг олон өвчнийг эмчлэхэд хэрэглэхийн сацуу эд эрхтэний хөгжлийн механизмыг улам гүнзгий танин мэдэхэд ихээхэн ач холбогдолтой юм. Үүдэл эсийг эмчилгээнд хэрэглэх талаар одоогоор 3 том салбарт нилээдгүй ахицтайгаар судалгаа шинжилгээ хийгдэж байгаа нь чихэрийн шижин судлал, мэдрэл судлал болон зүрх судлалын салбар юм.

## **Дүгнэлт**

1. Үүдэл эсийн судалгааны хамгийн ирээдүйтэй чиглэл iPS нь үүдэл эсийг гарган авах шинэ аргад төвлөрч гайхамшигт амжилтад хүрсээр байна. Анхны төлөвт шилжсэн эсээс ямар ч төрлийн эд эрхтэнг ургуулах боломж бүрдэж үүгээрээ iPS эс нь ES cell буюу үр хөврөлийн үүдэл эстэй адил шинж чанарыг агуулах юм. Үүгээрээ нас бие гүйцсэн хүний биеийн эсүүд үр хөврөлийн үеийн байдалд эргэн орох боломжыг лабораторийн нөхцөлд гүйцэлдүүлэх боломжтой төдийгүй iPS эсийг ашиглан өвчтөний өөрийнх нь эд эсийг гарган авснаар эд эсийн таарамжгүй асуудал гарахгүй, эмчилгээ найдвартай явагдах нөхцөл бүрдэх, цаашид хүний янз бүрийн эрхтэнг лабоарторид ургуулах бололцоотой болсноор нөхөн сэргээх эмчилгээний үр дүнг шинэ шатанд гаргах, хүний урт наслах боломжыг ихээхэн нэмэгдүүлэх зэрэг олон олон ирээдүй үүдэл эсийн судалгаа, хэрэглээний өмнө харагдаж байна.

2. Үүдэл эсийн судалгаа, хэрэглээний өнөөгийн байдал, цаашдын хандлагыг харгалзан үзэж ёс зүй, эрх зүйн үндэслэлийг өөрийн орны нөхцөлтэй уялдуулан боловсронгуй болгох үүднээс Монгол Улсын Эрүүл мэндийн хуульд холбогдох нэмэлт өөрчлөлт оруулах шаардлагатай гэж үзэж байна.

3. Үүдэл эсийн ёс зүй болоод зарим эрсдэлийг тооцон үзсэний үндсэн дээр хүйн цуснаас үүдэл эс гарган авч, монгол хүн амын дунд түгээмэл байгаа зарим өвчний эмчилгээ, оношлогоонд ашиглах нь зүйтэй байна.