

# Nghiên cứu và ứng dụng tế bào gốc ở Việt Nam

TS.BS PHẠM VĂN TRẦN

Học viện Quân y

Gần đây, việc trị liệu bằng tế bào gốc ở nước ta đã đạt được nhiều kết quả khả quan, đặc biệt trong việc sử dụng các tế bào gốc để thay thế hay cải thiện chức năng của mô, tái lập lại mô bị phá hủy với khả năng biệt hóa và tăng sinh cao. Tế bào gốc từ màng ối được phát hiện là các tế bào đa tiềm năng đã thu hút sự chú ý của nhiều nhà khoa học. Màng ối có những đặc điểm ưu việt: tế bào phân lập có thể biệt hóa thành nhiều loại tế bào khác nhau, tính sinh miễn dịch yếu và không đòi hỏi phải lấy từ phôi người để phân lập, tránh được những tranh cãi liên quan đến sử dụng tế bào gốc phôi thai người. Mới đây, Học viện Quân y hợp tác với Trường Đại học Toyama (Nhật Bản) đã phát triển thành công tẩm tế bào gốc màng ối, có nhiều ưu điểm và đã bắt đầu sử dụng trên người mang lại kết quả tốt.

**Từ khóa:** tế bào gốc, màng ối, phôi người, Học viện Quân y, Trường Đại học Toyama

## RESEARCH AND APPLICATION OF STEM CELLS IN VIETNAM

### Summary

Recently, therapy using stem cells in our country has achieved many positive results, especially in the use of stem cells to replace or improve the function of tissues, restore destroyed tissues with high differentiation and proliferation. Stem cells from the amniotic cells detected as potential cells have attracted the attention of many scientists. Amnion has pre-eminent characteristics as follows: isolated cells which can differentiate into many different cell types, weak immunogenicity and no require of being derived from human embryos to isolate, avoiding the controversy associated to the use of human embryonic stem cells. Recently, the Vietnam Military Medical Academy in collaboration with the University of Toyama (Japan) has developed a number of biological products from amniotic stem cells with many advantages and being used on people, bringing good results.

**Keywords:** stem cells, the amniotic cells, human embryos, the Vietnam Military Medical Academy, the University of Toyama

### Trị liệu tế bào gốc

Tế bào gốc là tế bào nền móng của tất cả các tế bào, mô và cơ quan trong cơ thể. Đây là những tế bào chưa biệt hoá nhưng có khả năng trở thành các tế bào chuyên biệt và có chức năng mới tương ứng. Dựa vào nguồn gốc, các tế bào gốc được phân chia thành 4 loại, đó là: tế bào gốc phôi (Embryonic stem cells), tế bào mầm phôi (Embryonic germ cells), tế bào gốc thai (Foetal stem cells), tế bào gốc trưởng thành (Adult stem cells/Somatic stem cells). Dựa vào đặc tính hay mức độ biệt hoá, tế bào gốc được chia thành: tế bào gốc toàn năng hay tế bào gốc thủy tổ (totipotent stem cells), tế bào gốc vạn năng (pluripotent stem cells), tế bào gốc đa năng (multipotent stem cells), tế bào gốc đơn năng (mono/unipotential progenitor cells).

Do tế bào gốc có khả năng biệt hóa thành các tế bào chức năng khác nhau nên đã mở ra triển vọng dùng tế bào gốc để tái tạo các mô, nghiên cứu phát triển thuốc cũng như ứng dụng vào điều trị lâm sàng. Tiềm năng ứng dụng quan trọng nhất của tế bào gốc là trị liệu tế bào gốc (stem cell therapy). Từ tế bào gốc có thể tạo ra các loại tế bào mới, mô mới để bổ sung hoặc thay thế cho các tế bào và mô cơ quan bị tổn thương hay mất chức năng. Cho tới nay, biện pháp hữu hiệu nhất để điều trị những trường hợp này là ghép mô, cơ quan - nhưng nhu cầu ghép mô và tạng lại cao hơn rất nhiều so với nguồn cung cấp. Từ một loại tế bào gốc có thể biệt hoá thành nhiều loại tế bào chuyên biệt để điều trị cho các bệnh có thoái hoá hoặc chấn thương mất tế bào như các bệnh Alzheimer, chấn thương tuỷ sống, đột quỵ não, nhồi máu cơ tim, tiểu đường tuý và các tổn thương mô do bệnh tiểu đường bồng và nhiều bệnh khác. Tuy nhiên, nguồn tế bào gốc có khó khăn về số lượng và quy trình thu thập tế bào.

Năm 1995, Bệnh viện Huyết học - Truyền máu TP Hồ Chí Minh lần đầu sử dụng tuỷ xương (thực chất là liệu pháp tế bào gốc tạo máu)

để ghép điều trị cho 1 bệnh nhân 27 tuổi bị bệnh bạch cầu mạn dòng tủy (Chronic myelogenous leukemia). Tiếp đó, năm 1996 thực hiện ghép tế bào gốc máu ngoại vi tự thân để điều trị bệnh lý ác tính về máu. Năm 2002, Bệnh viện này tiến hành ghép tế bào gốc tạo máu từ máu cuống rốn để điều trị bệnh bạch cầu cấp dòng lympho (Acute lymphoblastic leukemia). Sau đó, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương cũng bắt đầu tiến hành nghiên cứu ghép tủy xương để điều trị bệnh suy tủy, một số bệnh lý máu ác tính. Từ năm 2004, Trung tâm Huyết học và Truyền máu - Bệnh viện Trung ương Huế cũng đã triển khai ghép tế bào gốc từ máu ngoại vi để điều trị bệnh Lơ-xe-mi cấp. Tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, từ năm 2004 đã tiến hành các ca ghép tế bào máu từ máu tự thân cho các bệnh nhân ung thư máu. Năm 2007, Bệnh viện Việt Đức và Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 đã tiến hành ghép tế bào gốc từ tủy xương điều trị tổn thương xương khó liền hoặc khớp giả. Cũng trong thời gian này, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh đã tiến hành các nghiên cứu cơ bản về tế bào gốc, biệt hóa tế bào gốc trung mô dây rốn... Năm 2009, Ngân hàng tế bào gốc dây rốn đầu tiên của Việt Nam được thành lập để lưu trữ các tế bào gốc từ mẫu mô dây rốn. Hiện tại, ở Việt Nam đang có một số ngân hàng tế bào gốc được thành lập. Đó là ngân hàng tế bào gốc của các đơn vị: Công ty cổ phần Mekophar (Mekostem), Học viện Quân y, Viện Huyết học - Truyền máu TP Hồ Chí Minh.

Bên cạnh các nghiên cứu ứng dụng tế bào gốc tạo máu được triển khai ở các cơ sở nêu trên, các nghiên cứu tế bào gốc phôi chuột nhắt và tế bào gốc phôi gà cũng đã được tiến hành tại 2 Trường Đại học Khoa học Tự nhiên thuộc Đại học Quốc gia Hà Nội và Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh. Một dự án nghiên cứu tế bào gốc phôi người và tế bào gốc trưởng thành cũng đã được thông qua và bắt đầu triển khai tại Trường Đại học Y Hà Nội và các đơn vị phối hợp. Tuy nhiên, các dự án và nghiên cứu nêu trên chưa đề cập đến việc lập ngân hàng bảo quản lâu dài và sử dụng tế bào gốc màng ối.

Học viện Quân y là một trong những đơn vị tiên phong trong nghiên cứu trị liệu tế bào. Viện Bổng quốc gia đã nuôi cấy thành công nguyên bào sợi và tế bào biểu bì để điều trị vết thương, vết bỏng. Các tấm da nuôi cấy đã được chế tạo và sử dụng trong điều trị đạt kết quả tốt. Trung tâm Công nghệ phôi - Học viện Quân y đã thành công trong nuôi cấy tế bào gốc dòng tinh biệt hóa thành tinh trùng để điều trị cho các trường hợp hiếm muộn, mang lại hy vọng cho nhiều cặp vợ chồng vô sinh do nam giới.

Ở nước ta, ước tính hàng năm, riêng nhu cầu điều trị bệnh máu bằng ghép tế bào gốc cũng đã khoảng 300-500 trường hợp. Nhu cầu điều trị các khuyết hổng mô và suy chức năng tế bào/cơ quan rất lớn mà triển vọng có

thể áp dụng trị liệu tế bào gốc càng là con số lớn hơn. Tuy nhiên, lĩnh vực này vẫn còn nhiều hạn chế. Đó là nguồn tế bào gốc còn ít (mới chỉ dừng lại từ dây rốn, tủy xương), đặc biệt là các nghiên cứu áp dụng tế bào gốc biệt hóa thành các dòng tế bào áp dụng điều trị còn chưa đạt hiệu quả cao. Thêm nữa, các hướng nghiên cứu về tế bào gốc ở trong nước còn chưa đa dạng, chưa quan tâm nhiều đến những hướng tạo sinh tế bào gốc từ nguồn các tế bào khác.

## Nghiên cứu và ứng dụng tế bào gốc từ màng ối người

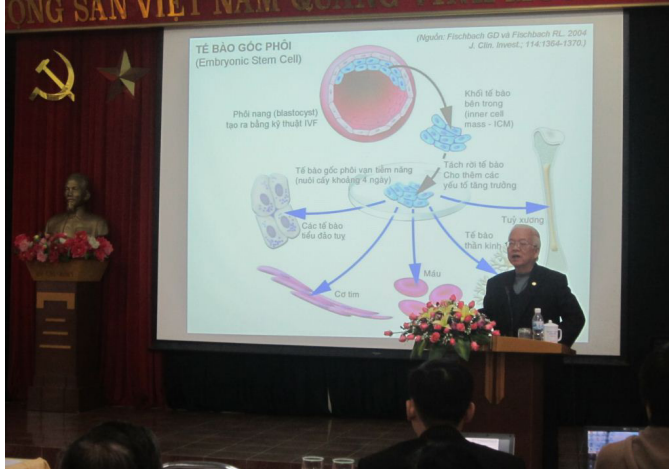
Gần đây, bổ sung các phương thức trị liệu hiện nay như điều trị nội khoa, phẫu thuật, ghép tạng và các phương tiện hỗ trợ cơ học thì y học tái tạo đang được tập trung vào những thay thế tiềm năng đối với ghép các mô/tạng phức tạp. Y học tái tạo là một lĩnh vực mới dựa trên sử dụng các tế bào gốc để thay thế các mô và cơ quan bị tổn thương. Các tế bào gốc màng ối đã được ứng dụng để điều trị hàng loạt bệnh lý ở các cơ quan khác nhau như nhồi máu cơ tim, Parkinson [1]... Các nghiên cứu mới đây trên mô hình động vật và một số thử nghiệm lâm sàng cho thấy có thể dùng tế bào gốc màng ối để tái tạo lại mô cơ bị tổn thương. Các nghiên cứu theo hướng này dựa vào tính "uỷển chuyển" (plasticity) của tế bào gốc màng ối và mở ra triển vọng mới ứng dụng tế bào gốc màng ối trong điều trị. Cấy ghép mô cần cung cấp một số lượng lớn mô người trưởng thành. Có thể phân lập tế bào gốc từ màng ối và biệt hóa tạo thành những mô chuyên biệt. Như vậy, từ một số lượng nhỏ tế bào có thể nuôi cấy tăng sinh đủ để phục vụ cho cấy ghép.

### **Biệt hóa tế bào gốc màng ối thành tế bào tuyến tụy (Pancreatic $\beta$ -cells)**

Đối với việc điều trị bệnh tiểu đường type I hay cấy ghép tụy có thể kiểm soát đường máu và tiến tới ngăn chặn biến chứng. Tuy nhiên, luôn bị giới hạn bởi không đủ nguyên liệu dùng cho cấy ghép. Theo hướng khác, các tế bào tuyến tụy được tạo ra bằng biệt hóa các tế bào gốc phôi thai. Các tế bào ES chuột có thể biệt hóa thành tế bào sản xuất insulin, nhưng không thành tế bào tuyến tụy trưởng thành. Kết quả của quá trình biệt hóa từ tế bào ES thành tế bào sản xuất insulin là việc tăng biểu hiện của các dấu ấn TGF  $\beta$ 2, PDX-1 hoặc insulin [2]. Để biệt hóa tế bào HAE thành tế bào sản xuất insulin, môi trường nuôi cấy được bổ sung nicotinamide 10 mM trong vòng 4 tuần. Khi kích thích với nicotinamide, tế bào HAE biểu hiện ARNtt insulin in vitro, và ở mức độ in vivo, nồng độ đường trong máu giảm về mức bình thường trên chuột gây tiểu đường thực nghiệm bằng streptozotocin [3].

### **Biệt hóa tế bào gốc màng ối thành tế bào biểu bì da (Keratinocytes)**

Da động vật có vú là một tổ chức đặc biệt bao gồm



Hội thảo khoa học: Ứng dụng tế bào gốc từ lý thuyết đến hiện thực

những quần thể tế bào gốc biểu bì. Chúng có khả năng tăng sinh mạnh trước khi biệt hóa thành nhiều loại tế bào khác của biểu bì, đồng thời luôn tồn tại một nhóm tế bào có khả năng tăng sinh trên màng đáy. Đã có rất nhiều sản phẩm da nhân tạo được ứng dụng trong điều trị vết thương, vết bỏng nhưng chưa được đưa vào sử dụng thường quy vì giá thành cao, hiệu quả điều trị thấp và đặc biệt không chứa các thành phần phụ của da như nang lông, tuyến mồ hôi, tuyến bã... Tế bào gốc dựa trên những phát hiện của Ernest A. McCulloch và James E. Till là các tế bào có khả năng tự làm mới và có thể biệt hóa thành nhiều loại tế bào khác nhau trong đó có tế bào biểu bì có thể giúp chế tạo da nhân tạo in vitro. Nguồn tế bào gốc quan trọng được sử dụng trong y học tái tạo là các tế bào gốc phôi, tế bào gốc trưởng thành và gần đây là các tế bào gốc màng ối.

Năm 1996, Bagutti và CS đã thành công trong việc biệt hóa tế bào gốc phôi thành tế bào có biểu hiện marker của tế bào biểu bì [4]. Trên cơ sở đó, một số tác giả đã thành công trong biệt hóa tế bào gốc màng ối thành tổ chức giống biểu bì. Khả năng biệt hóa tế bào gốc màng ối thành tế bào biểu bì đem đến hy vọng sản xuất các tế bào giống tế bào gốc da đa tiềm năng khu trú ở trung bì, gốc lông và tuyến bã cho phép da tự làm mới lớp biểu mô phủ và các phần phụ của chúng. Những tế bào biểu bì có khả năng tự làm mới cao sẽ có thể là nguồn tế bào phục vụ trong y học tái tạo đặc biệt trong lĩnh vực điều trị bỏng [5].

#### **Biệt hóa tế bào gốc màng ối thành tế bào gan (Hepatocytes)**

Để điều trị các bệnh gan nặng như viêm gan cấp tính và suy gan nặng, một số tác giả thực hiện cấy ghép tế bào gan. Tuy nhiên, vẫn có rất nhiều câu hỏi về cách tiếp cận này, đặc biệt là liên quan đến nguồn cho tế bào. Năm 2000, các tế bào gốc gan đã được tìm ra từ quá trình phát triển của gan chuột, và tế bào gốc gan được đề xuất như là một nguồn tế bào cấy ghép. Các tế bào không thuộc dòng tế bào gan có thể biệt hóa thành tế bào gan cũng đã được đề xuất là tiềm năng có ích cho việc cấy ghép tế bào. Các nguồn tế bào từ tủy xương cho thấy, có thể biệt hóa thành tế bào gan cả ở in vivo và in vitro trên chuột, cũng như các tế bào gốc phôi chuột [6, 7]. Ở người, tế bào gốc phôi thai, các tế bào nguồn gốc tủy xương, và các tế bào máu dây rốn đã được thể hiện là nguồn cho có thể cấy ghép. Tuy nhiên, khả năng biệt hóa của các tế bào

## NGHIÊN CỨU - TRAO ĐỔI

gốc tủy xương thành tế bào gan thấp nên việc ứng dụng có nhiều hạn chế.

Các tế bào HAE biểu hiện albumin,  $\alpha$ 1-antitrypsin ( $\alpha$ 1-AT), cytokeratin 18, phosphoenolpyruvate cacboxykinaza và đặc biệt là cytochrome P450. Sau khi nuôi cấy HAE, tế bào bắt đầu xuất hiện  $\alpha$ -fetoprotein ( $\alpha$ -FP), transthyretin, tyrosine aminotransferase (TAT) và CYP-450. Ngoài ra, albumin và glycogen được phát hiện bằng hóa miễn dịch ở hầu hết các tế bào HAE nuôi cấy cũng phù hợp với các nghiên cứu trước cho rằng, sản xuất albumin cũng đã được quan sát thấy trong một nửa các tế bào màng ối chuột. Điều đó chứng tỏ rằng có thể dùng tế bào gốc màng ối để tái sinh gan.

#### **Biệt hóa tế bào gốc màng ối thành tế bào sụn (Chondrocytes)**

Cũng đã có nhiều công trình mô tả, phân tích tế bào gốc màng ối HAM và tiềm năng cho việc sửa chữa sụn [8]. Tế bào HAM liên quan đến gen, bao gồm Sox-9, Sox-5, Sox-6, protein bone morphogenetic (BMP) -2 và -4, cũng như thụ thể BMP. Trong thí nghiệm in vitro, collagen loại II và aggrecan được biểu hiện sau khi cho chất cảm ứng của chondrogenesis với BMP-2. Ở in vitro, các tế bào HAM được cấy vào sụn mô của chuột với BMP-2 hoặc cấy ghép với giá đỡ collagen vào vị trí bị khuyết tật, tạo ra xương của chuột dựa vào thay đổi hình thái với sự lắng đọng của collagen loại II. Những kết quả này cho thấy, tế bào HAM có tiềm năng biệt hóa thành tế bào sụn trong in vitro và in vivo, có tiềm năng điều trị cho bệnh về sụn hoặc sụn bị tổn thương [9].

#### **Sử dụng tẩm tế bào gốc màng ối người trong công nghệ mô (tissue engineering)**

Trong công nghệ mô trị liệu tế bào (cell therapy), việc tìm ra chất liệu phù hợp làm giá thể để cấy ghép tế bào là điều kiện tiên quyết giúp cho việc cấy ghép thành công. Giá thể vừa có vai trò cố định một cách chính xác tế bào vào vị trí cần cấy ghép, vừa là môi trường tạo điều kiện cho tế bào tăng sinh, biệt hóa theo mục tiêu điều trị. Ví dụ, khi ghép tế bào gốc điều trị bỏng giác mạc, nếu không có giá thể, tế bào sẽ nhanh chóng bị rửa trôi bởi nước mắt hoặc nếu tế bào bám được vào giác mạc thì cũng rất dễ bị tổn thương qua các lần thay băng. Trên thế giới đã có nhiều tác giả dùng các loại băng sinh học khác nhau làm giá thể.

Một điều kiện tiên quyết cho việc lựa chọn một giá đỡ là tính phù hợp về mặt sinh học của nó. Phù hợp sinh học là sự thích hợp với tổ chức sống, không độc, không gây ung thư hoặc không kích thích sinh miễn dịch trong mô sống. Giá đỡ không bị phá hủy bởi quá trình viêm vì có sự thích hợp với vật chủ. Ngoài ra, giá đỡ cần có tính chất cơ học phù hợp với mô, bao gồm tính thấm, tính ổn định, độ

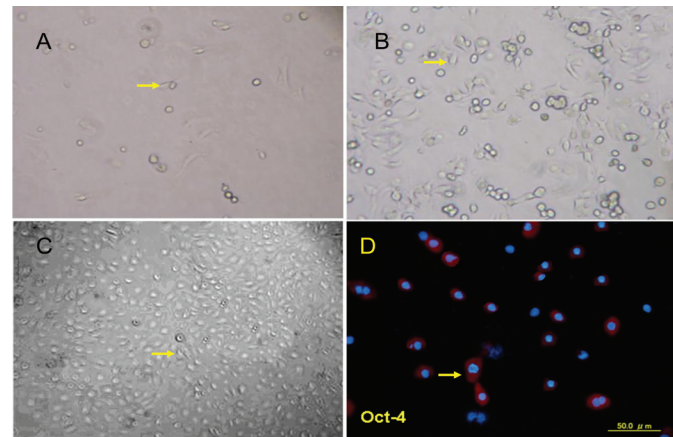
đàn hồi, tính linh hoạt và dễ dàng lấy bỏ khi cần. Giá đỡ cũng cần cho phép tế bào bám dính và khả năng thấm qua dễ dàng các chất như các yếu tố sinh trưởng và các vật liệu di truyền. Sự bám dính của tế bào trên giá đỡ bị ảnh hưởng bởi thành phần của giá đỡ tương tự như chất gian bào (extracellular matrix - ECM). Sự hiện diện hay vắng mặt của một số phân tử của giá đỡ như collagen, laminin, fibronectin và vitronectin có ảnh hưởng rất lớn về độ bám dính và tăng trưởng của các tế bào. Giá đỡ cho phép các tế bào bám dính, di chuyển và biệt hóa thông qua sự tương tác của nó với với các thụ thể trên bề mặt tế bào.

Trên thế giới, nhiều tác giả sử dụng màng cacbon, nitrocellulose hoặc màng PVDF (polyvinylidene difluoride) làm giá thể. Vật liệu này có sức bền cao, không độc, có khả năng cố định tế bào. Tuy nhiên nó không có hoạt tính sinh học và khi hết thời gian điều trị, cần phẫu thuật để lấy bỏ màng làm tổn thương tại chỗ. Một số tác giả dùng các màng nhân tạo được tạo bởi các thành phần tương tự như chất gian bào của tổ chức cơ thể người như matrigel. Matrigel tạo thành các tấm lưới đan xen bao gồm các sợi collagen, laminin. Mạng lưới này giúp cố định tế bào, kích thích tế bào tăng sinh và biệt hóa, đồng thời tự tiêu hủy sau một thời gian điều trị. Nhược điểm của matrigel là không có sẵn các yếu tố sinh trưởng và giá thành cao, không dễ dàng áp dụng tại Việt Nam.

Màng ối là một giá đỡ với mô hình cấu trúc tương tự như chất gian bào trong tổ chức, cơ quan. Tế bào biểu mô màng ối tiết ra các thành phần ngoại bào collagen type III và IV và các glycoprotein khác như laminins, nidogen và fibronectin tạo nên màng nền của màng ối. Lớp xốp trên màng ối là các proteoglycan ưa nước và glycoprotein chứa các mạng lưới gồm chủ yếu là collagen type III. Perlecan, một heparan sulphate proteoglycan là thành phần chủ yếu của màng nền. Perlecan tạo nên sự gắn kết các yếu tố sinh trưởng với protein ngoại bào và các phân tử bám dính. Màng ối toàn phần chứa nồng độ cao các chất kích thích sinh trưởng tế bào. Vì vậy, màng ối không chỉ là giá đỡ thông thường như các vật liệu trên mà nó còn cung cấp các cytokin có vai trò quan trọng trong việc tạo ra môi trường cho tế bào gốc tồn tại.

Tế bào gốc màng ối được phân lập từ màng ối là các tế bào gốc đa tiềm năng, có khả năng tăng sinh và biệt hóa thành nhiều loại tế bào khác nhau như tế bào da, tế bào gan, tế bào tụy... Ngoài ra nó còn có khả năng chống viêm, tính sinh miễn dịch thấp. Sử dụng tế bào gốc màng ối không gây tranh cãi về vấn đề đạo đức như sử dụng các tế bào phôi người do màng ối là các sản phẩm bỏ đi trong quá trình sinh nở.

Mới đây, Học viện Quân y hợp tác với Trường Đại học Toyama (Nhật Bản) đã phát triển thành công một số sản phẩm sinh học từ tế bào gốc màng ối. Nhóm nghiên cứu do GS Toshio Nikaido và TS Phạm Văn Trần đứng đầu đã



Phân lập và nuôi cấy tế bào gốc từ màng ối: (A) Tế bào gốc màng ối sau 24h nuôi cấy; (B) Tế bào gốc màng ối sau 7 ngày nuôi cấy; (C) Tế bào gốc màng ối sau 14 ngày nuôi cấy; (D) Nhuộm hóa miễn dịch tế bào gốc màng ối với dấu ấn OCT-4

tạo ra tấm tế bào gốc màng ối. Tấm tế bào gốc màng ối là sự hợp nhất giữa màng ối đông khô được làm ướt phục hồi và tế bào gốc màng ối. Trong nghiên cứu này, màng ối được sử dụng như một giá thể sinh học mang tế bào gốc màng ối để ghép vào mô, cơ quan bị tổn thương. Màng ối vừa có giá trị giữ cố định tế bào vào mô ghép, vừa cung cấp môi trường trong đó có các cytokin, yếu tố sinh trưởng giúp cho tế bào tăng sinh và biệt hóa. Sau khi điều trị, màng ối bị tiêu hủy hoàn toàn mà không để lại di chứng tại chỗ điều trị ■

## Tài liệu tham khảo

- [1] Parolini O., et al., *Concise review: isolation and characterization of cells from human term placenta: outcome of the first international Workshop on Placenta Derived Stem Cells*. Stem Cells, 2008. 26(2): p. 300-11.
- [2] Zhang H., et al., *Human amniotic cell sheet harvest using a novel temperature-responsive culture surface coated with protein-based polymer*. Tissue Eng, 2006. 12(2): p. 391-401.
- [3] Wei J.P., et al., *Human amnion-isolated cells normalize blood glucose in streptozotocin-induced diabetic mice*. Cell Transplant, 2003. 12(5): p. 545-52.
- [4] Bagutti C., et al., *Differentiation of embryonal stem cells into keratinocytes: comparison of wild-type and beta 1 integrin-deficient cells*. Dev Biol, 1996. 179(1): p. 184-96.
- [5] Potten C.S., et al., *Cell kinetic studies in the murine ventral tongue epithelium: the effects of repeated exposure to keratinocyte growth factor*. Cell Prolif, 2002. 35 Suppl 1: p. 22-31.
- [6] Pan G.Z., et al., *Bone marrow mesenchymal stem cells ameliorate hepatic ischemia/reperfusion injuries via inactivation of the MEK/ERK signaling pathway in rats*. J Surg Res.
- [7] Narumi K., et al., *Development of a repeated-dose liver micronucleus assay using adult rats: An investigation of diethylnitrosamine and 2,4-diaminotoluene*. Mutat Res.
- [8] Kunisaki S.M., R.W. Jennings and D.O. Fauza, *Fetal cartilage engineering from amniotic mesenchymal progenitor cells*. Stem Cells Dev, 2006. 15(2): p. 245-53.
- [9] Diaz-Prado S., et al., *Isolation and Characterization of Mesenchymal Stem Cells from Human Amniotic Membrane*. Tissue Eng Part C Methods.