



## รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การศึกษาถึงผลของ interleukin -1 $\beta$  ต่อการแสดงออกของ  
androgen receptor โดยต่อมรากผมคนที่นำมาเพาะเลี้ยงใน  
ห้องทดลอง

Effect of interleukin-1 $\beta$  on androgen receptor expression by  
cultured human hair follicle

ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2550

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ



### คณะผู้วิจัย

ผศ. น.พ. อูทัย ตันกิตติวัฒน์

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ผศ. เอมอร เจริญสรรพพืช

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ผศ. ดร.น.สพ. พูลพล ผดุงชัยโชติ

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

รศ. ดร. สพ.ญ. วณิดา ไตรพานิชย์กุล

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ผศ. ดร. สพ.ญ. อรพิน เกิดประเสริฐ

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

## บทคัดย่อ

เป็นที่รู้กันทั่วไปว่า androgen กระตุ้นการเจริญของขนในหลายบริเวณของร่างกาย เช่น ที่หนวดและเครา แต่ที่ผมบนศีรษะ androgen สามารถเปลี่ยนผมปกติให้เข้าสู่ภาวะเสื่อมและหลุดร่วงลงจนเกิดเป็นศีรษะล้านซึ่งเกี่ยวข้องกับพันธุกรรมของบุคคลนั้นๆ dermal papilla cells ที่อยู่ในต่อมรากผมของหนังศีรษะเป็นบริเวณแรกที่ androgen ออกฤทธิ์ interleukin-1 $\beta$  เป็น inflammatory mediator ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของผมทำให้ผมหลุดร่วง เพื่อศึกษา immunolocalization ของ androgen receptor ด้วย monoclonal และ polyclonal ที่เฉพาะต่อ androgen receptor protein .โดยใช้ paraffin section และ cryosection จากหนังศีรษะคน ต่อมรากผมปกติ และต่อมรากผมที่นำมาเลี้ยงและเติม interleukin-1 $\beta$  immunolocalization ของ androgen receptor พบเฉพาะบนนิวเคลียสของเซลล์ในต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ และบางเซลล์ใน dermal papilla ของต่อมรากผม การแสดงออกของ androgen receptor จะลดลงหรือหายไปใน dermal papilla ของต่อมรากผมที่มี interleukin-1 $\beta$  อยู่ในอาหารเลี้ยงต่อมรากผม ข้อมูลที่ได้จะเป็นจุดเริ่มต้นในการศึกษาถึงกลไกที่เกี่ยวข้องของ cytokines อื่นๆที่มีต่อการแสดงออกของ androgen receptor

Keywords: hair follicle, androgen receptor, interleukin-1 $\beta$



## Abstract

It is well known that androgens stimulate normal human hair growth in many areas such as beard but it can also transform scalp hair follicles to regression and balding according to genetically individuals. The dermal papilla cells of scalp hair follicle are primarily major site of androgen action. Interlekin-1 $\beta$  is a powerful inflammatory mediator for promoting human hair loss. To investigate the immunohistochemical localization of androgen receptor using both monoclonal and polyclonal antibody for human androgen receptor protein in paraffin and cryosection of human scalp tissue, plug hair follicles and cultured human hair follicle with or without IL-1 $\beta$  in culture media were used. Immunolocalization of androgen receptor was detected in nuclei of several skin appendages, such as sebaceous gland, sweat gland and some hair follicles. But the androgen receptor expression was decreased in hair follicles cultured with Interlekin-1 $\beta$  (10 ng/ml). This information on the partial to total decrease of androgen receptor cultured with Interlekin-1 $\beta$  should be the beginning of the further study on the specific role of other cytokines on androgen receptor expression.

Keywords: hair follicle, androgen receptor, interleukin-1 $\beta$

## ประกาศคุณูปการ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณโรงพยาบาลยันฮีที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บชิ้นเนื้อหนังศีรษะที่ใช้ในการศึกษานี้  
ขอขอบคุณภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือ สารเคมี และหน่วย  
ห้องวิจัยรวมที่ให้ความสะดวกในการใช้สถานที่ในการดำเนินการวิจัย ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ในการให้  
ทุนสนับสนุนการทำวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2550



## สารบัญ

| เรื่อง                                 | หน้า |
|--|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย                        | iii  |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ                     | iv   |
| ประกาศศุภฤกษ์                          | v    |
| สารบัญ                                 | vi   |
| บัญชีตาราง                             | vii  |
| บัญชีภาพประกอบ                         | viii |
| บทที่ 1 บทนำ                           | 1    |
| บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง | 2    |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย             | 4    |
| บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล           | 7    |
| บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ   | 21   |
| บรรณานุกรม                             | 22   |
| ประวัติย่อผู้วิจัย                     | 25   |



## บัญชีตาราง

|   | หน้า |
|---|------|
| ตารางที่ 1 วิธีคืนสภาพแอนติเจน  | 6    |
| ตารางที่ 2 Immunohistochemical localization of androgen receptor with antibody and detection system | 9    |



## บัญชีภาพประกอบ

|  | หน้า |
|--|------|
| รูปที่ 1 Paraffin section ของหนังศีรษะ ย้อม immunohistochemistry ไม่มี androgen receptor antibody (negative control):  | 10   |
| รูปที่ 2 Paraffin section ของหนังศีรษะ ย้อม immunohistochemistry ด้วย androgen receptor antibody ทำการคืนสภาพแอนติเจนด้วย 10mM Citrate buffer pH 6   | 11   |
| รูปที่ 3 Paraffin section ของหนังศีรษะ ย้อม immunohistochemistry ด้วยเครื่อง Autostain (DAKO, Denmark) androgen receptor antibody:   | 12   |
| รูปที่ 4 Paraffin section ของหนังศีรษะ เปรียบเทียบการแสดงผลของ androgen receptor ที่ต่อมไขมัน, ต่อมเหงื่อ และต่อมรากผม ทำการคืนสภาพแอนติเจน ด้วยวิธีที่แตกต่างกัน  | 13   |
| รูปที่ 5 Paraffin section ของต่อมรากผม เปรียบเทียบการแสดงผลของ androgen receptor ใน dermal papilla ทำการคืนสภาพแอนติเจนด้วยเอนไซม์ที่ต่างกัน และเวลา incubation ตั้งแต่ 5 -10 นาที   | 14   |
| รูปที่ 6 Paraffin section ของต่อมรากผม เปรียบเทียบการแสดงผลของ androgen receptor ใน dermal papilla การคืนสภาพแอนติเจนโดยใช้สารเคมี และให้ความร้อนด้วย microwave oven high power 3 นาที defrost power ตั้งแต่ 4-10 นาที                             | 15   |
| รูปที่ 7 Paraffin section ของต่อมรากผม เปรียบเทียบการแสดงผลของ androgen receptor ในต่อมรากผมที่แยกจากหนังศีรษะก่อนนำไปเลี้ยง, ต่อมรากผมที่นำไปเลี้ยงในน้ำยาเลี้ยงต่อมรากผมปกติ และ ต่อมรากผมที่เติม IL-1 $\beta$ การคืนสภาพแอนติเจนทำโดยใช้สารเคมี | 16   |
| รูปที่ 8 Frozen section ของต่อมรากผม ที่ fix ด้วย (A, B) acetone ทันที, (C, D) air dry 10 นาที acetone 10 นาที, (E, F) air dry 10 นาที acetone 10 นาที และ 4% neutral buffer formalin 10 นาที เปรียบเทียบการแสดงผลของ androgen receptor            | 17   |
| รูปที่ 9 Frozen section ของหนังศีรษะ air dry 10 นาที fix ด้วย acetone 10 นาที  | 18   |
| รูปที่ 10 Frozen section หนังศีรษะ fix ด้วย 4% neutral buffer formalin   | 19   |
| รูปที่ 11 Frozen section ของหนังศีรษะ fix ด้วย (A- F) air dry 10 นาที acetone 10 นาที, air dry 10 นาที acetone 10 นาที และ 4% neutral buffer formalin 10 นาที เปรียบเทียบการแสดงผลของ androgen receptor  | 20   |



# บทที่ 1

## บทนำ

ผมร่วงเป็นอาการที่ไม่มีผลข้างเคียงรุนแรงจนเสียชีวิต แต่สามารถสร้างความกังวลใจและลดความมั่นใจของผู้ที่ประสบปัญหาผมร่วงและศีรษะล้านได้ ทำให้มีผลต่อความเชื่อมั่นและบุคลิกภาพ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการทำงานลดน้อยลง และในรายที่เกิดอาการลุกลามจะทำให้การรักษาเป็นไปได้ยาก อาการผมร่วงที่เกิดจากการอักเสบ เกิดเนื่องจากการมีปริมาณของ inflammatory cytokines เพิ่มมากขึ้นในบริเวณหนังศีรษะ ไปหยุดการเจริญของต่อมรากผมและเข้าสู่ขบวนการเสื่อมและหลุดร่วงไปในที่สุด การเจริญและวงจรการเจริญของต่อมรากผมอยู่ภายใต้อิทธิพลของแอนโดรเจน (androgen) ซึ่งจะออกฤทธิ์เมื่อจับกับ androgen receptor การเปลี่ยนแปลงจำนวนของ androgen receptor อาจส่งผลต่อการเจริญของต่อมรากผมโดยตรง

ดังนั้นการศึกษาถึงผลของ inflammatory cytokines โดยเฉพาะ proinflammatory cytokine เช่น interleukin - 1 $\beta$  ต่อการแสดงออกของ androgen receptor โดยใช้การเพาะเลี้ยงต่อมรากผมในห้องทดลอง มาเป็นแบบจำลองในการศึกษาจะเพื่อทำให้เกิดความเกี่ยวเนื่องของ interleukin-1  $\beta$  ที่มีต่อการหลุดร่วงของผมมากขึ้น



## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ต่อมรากผม (hair follicle) มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอก เจริญมาจากหนังกำพร้าที่หัวว่าลีกลงมาอยู่ในชั้นของหนังแท้ ต่อมรากผมแบ่งออกเป็น epithelial components ซึ่งประกอบไปด้วย inner และ outer root sheath และ hair shaft ประกอบด้วย follicular keratinocytes และ melanocytes ส่วน mesenchymal components คือ dermal papilla และ connective tissue sheath โดย dermal papilla เป็นส่วนปลายล่างของต่อมรากผมที่พองออกเป็นกระเปาะ ภายใน dermal papilla มี dermal papilla cells เป็น specialized fibroblast-like cells ซึ่งมีคุณสมบัติเหมือน fibroblasts ทั่วไปโดยสามารถสังเคราะห์ collagen (Kasuda and Mauch 1988) และสามารถหลั่งสาร growth factors และ extracellular matrix proteins (Randall, Hibberts et al. 2001) ขณะที่ต่อมรากผมมีการเจริญ ส่วนของ dermal papilla ของต่อมรากผมจะคงอยู่ตลอดเวลาแต่ส่วนบนของต่อมรากผมจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็นวงจร (Thornton, Messenger et al. 1991) วงจรการเจริญของผมและขนแบ่งออกได้เป็น 3 ระยะ คือ ระยะเจริญเติบโต (anagen phase), ระยะหยุดการเจริญเติบโตหรือเสื่อมสภาพ (catagen phase) และระยะพักตัว (telogen phase) (Paus 1998) ซึ่งเป็นช่วงรอยต่อของผมที่กำลังจะหลุดร่วงกับเส้นผมใหม่ที่กำลังจะขึ้นมาแทน วงจรการงอกของผมจะวนเวียนกลับไปสู่ระยะเจริญเติบโตและระยะต่างๆอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา จากการศึกษาพบว่า dermal papilla cells ทำหน้าที่หลักในการกระตุ้นและควบคุมการเปลี่ยนแปลงของวงจรการงอกของผม (Jahoda and Oliver 1981; Jahoda and Home 1984)

ต่อมรากผมและต่อมรากขน, ต่อมไขมัน และต่อมเหงื่อโดยเฉพาะชนิด apocrine เป็นอวัยวะในร่างกายที่การเจริญเติบโตขึ้นอยู่กับระดับของ androgens (androgen-dependent) (Ebling 1986) แต่ต่อมรากผมและต่อมรากขนนั้นแตกต่างจากอวัยวะอื่น คือการเจริญของต่อมรากผมและต่อมรากขนขึ้นกับ androgen แล้วยังขึ้นกับตำแหน่งที่พบบนร่างกาย กล่าวคือ androgens กระตุ้นการเจริญของต่อมรากผมและต่อมรากขนที่บริเวณ หนวด, เครา, ขนรักแร้ และที่อวัยวะสืบพันธุ์ โดย androgen จะเปลี่ยน vellus hair ซึ่งเป็นผมเส้นบาง ให้เป็น terminal hair เป็นผมเส้นใหญ่ หนา สีเข้ม แต่ androgens จะยับยั้งการเจริญของต่อมรากผมบนหนังศีรษะของบุคคลที่มีความบกพร่องทางพันธุกรรม (Ebling, 1986; Inui, 2012) เช่น บุคคลที่มีภาวะมี androgen มากเกินไปในร่างกายเมื่อเข้าสู่ระยะหลังวัยหนุ่ม (postpubertal period) ซึ่งมีระดับ testosterone สูงจะเกิดการเปลี่ยนแปลงจากเดิมมีผมเส้นใหญ่ที่หนาและมีสีเข้มให้กลับเป็นผมเส้นบาง สั้น สีจาง ตามมาด้วยการตายของต่อมรากผมแบบถาวรและเกิดการหลุดร่วงของผมออกจากหนังศีรษะและไม่กลับมาเจริญเข้าสู่วงจรการงอกของผมตามปกติทำให้เกิดศีรษะล้าน (Ellis, Sinclair et al. 2002; Hoffmann 2002; Reborna 2004) แต่ถ้าบุคคลดังกล่าวตัดอัณฑะออกก่อนเข้าสู่วัยหนุ่ม (prepubertal period) จะสามารถป้องกันการเกิดขบวนการดังกล่าวได้ (Hamilton 1942) จากการเก็บข้อมูลทางการแพทย์พบว่าชายที่มีอัณฑะเจริญผิดปกติและมีปริมาณ testosterone ต่ำก็จะไม่เกิดอาการผมร่วงและศีรษะล้าน (Liao, Kokontis et al. 1989) ปัญหาผมร่วงในชายและหญิงที่เกิดจากการมีปริมาณ androgens ในหนังศีรษะมากเรียกว่า androgenic alopecia (Hamilton 1942; Ebling 1986)

โดยทั่วไป androgens มีผลต่อการเจริญของต่อมรากผมในทั้งเพศชายและหญิงโดย weak proandrogens เช่น dehydroepiandrosterone (DHEA) และ dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) จากกระแสเลือดเข้าผิวหนัง โดยผ่านทางหลอดเลือดฝอย จับกับ androgen receptor ในเซลล์เพื่อเปลี่ยนแปลงเป็น potent androgen เช่น dihydrotestosterone (DHT) ด้วยเอนไซม์ 5- $\alpha$  reductase เกิดขึ้นที่เซลล์ต่อมไขมัน (sebocytes), เซลล์ที่ต่อมเหงื่อ

(sweat gland) และ dermal papilla cells (Liao, Kokontis et al. 1989; Zouboulis 2000) ในต่อมรากผม DHT มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ hormone responsive genes เกิดการผลิต paracrine และ autocrine factors เช่น insulin-like growth factor (IGF) -1 (Itami, Kurata et al. 1995) ควบคุมการเจริญและการทำงานของเซลล์อื่นๆในต่อมรากผม (Randall, Hibberts et al. 2001) เช่น follicular keratinocytes, melanocytes, endothelial cells และ dermal papilla cells ข้างเคียง (Itami, Kurata et al. 1991; Itami, Sonoda et al. 1994; Itami, Kurata et al. 1995; Obana, Chang et al. 1997) จากการศึกษาดังกล่าวเป็นการบ่งชี้ว่า androgens มีมีส่วนสำคัญต่อการเจริญของต่อมรากผมโดยผ่านทาง dermal papilla cells

Androgen receptor (AR) จัดอยู่ในกลุ่ม steroid/nuclear receptor superfamily of transcription factors พบที่ target organ ของ androgenic hormone เช่น ต่อมลูกหมาก ผิวหนัง อัณฑะ ตับ เป็นต้น (Kimura, Mizokami et al. 1993) การศึกษา *in vivo* โดยใช้หนังศีรษะจากคนปกติพบการแสดงออกของ androgen receptor โดย dermal papilla cells ที่มาจากต่อมรากผมที่ติดกับหนังศีรษะ (intact hair follicle) (Lachgar, Charveron et al. 1999; Kwon, Han et al. 2004; Itami and Inui 2005) ใน *in vitro* พบว่า cultured dermal papilla cells ที่แยกจาก hair follicles ของหนังศีรษะจากคนปกติมีการแสดงออกของ androgen receptor protein และ mRNA (Thornton, Messenger et al. 1991; Randall, Thornton et al. 1992; Randall, Thornton et al. 1994; Ando, Yamaguchi et al. 1999; Lachgar, Charveron et al. 1999; Kwon, Han et al. 2004; Itami and Inui 2005)

Interleukin-1 (IL-1) อยู่ในกลุ่ม proinflammatory cytokines มี 2 isoforms คือ IL-1 $\alpha$  และ IL-1 $\beta$  (Dinarello 2000) ทั้ง IL-1 $\alpha$  และ IL-1 $\beta$  mRNA เพิ่มปริมาณมากในผิวหนังของหนูที่ถูกกระตุ้นให้เกิดการงอกของขนใหม่โดยเฉพาะในช่วงเริ่มแรกของระยะเลื้อยของต่อมรากขน และจะพบมากที่สุดเมื่อเข้าสู่ระยะพัก (Hoffmann, Wenzel et al. 1994) ในผู้ป่วยที่มีภาวะผมร่วงแบบ alopecia areata พบว่ามีการแสดงออกของ IL-1 $\beta$  เพิ่มมากขึ้น (Hoffmann, Wenzel et al. 1994) นอกจากนี้ยังพบ IL-1 $\beta$  มากเมื่อผิวหนังเกิดบาดแผล และเมื่อเกิดการอักเสบ เมื่อมีการเติม IL-1 $\beta$  ความเข้มข้นต่ำ (0.01-0.1 ng/ml) ในน้ำยาเลี้ยงต่อมรากผมทำให้ต่อมรากผมผลิตผมที่มีขนาดเล็กลง และ dermal papilla cells ที่อยู่ในต่อมรากผมนั้นจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโดยมีการจัดตัวไม่เป็นระเบียบ แต่ถ้าเติม IL-1 $\beta$  ที่ความเข้มข้นสูง (1-10 ng/ml) จะทำให้ต่อมรากผมหยุดการเจริญและหยุดการสร้างผมและเกิดการตายของต่อมรากผมในที่สุด (Harmon and Nevins 1993; Philpott, Sanders et al. 1996; Xiong and Harmon 1997) ถ้ามีปริมาณ IL-1 $\beta$  มากในผิวหนังทำให้การเจริญของต่อมรากผมหยุดลงเกิดการตายของ hair bulb keratinocytes และต่อมรากผมบริเวณนั้นจะเข้าสู่ระยะเลื้อย (Ruckert, Lindner et al. 2000) นอกจากนี้การเติม IL-1 $\alpha$  (0.1-1 ng/ml) ลงใน cultured dermal papilla cells ทำให้ลดการแสดงออกของ androgen receptor mRNA และโปรตีน ใน dermal papilla cells (Boivin, Jiang et al. 2006) แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงผลของ interleukin-1 $\beta$  ต่อการแสดงออกของ androgen receptor ในต่อมรากผมปกติ

ในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการแสดงออกของ androgen receptor ในต่อมรากผมจากหนังศีรษะปกติเปรียบเทียบกับเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของ androgen receptor ในต่อมรากผมที่นำออกมาเลี้ยงในน้ำยาเลี้ยงต่อมรากผมปกติและน้ำยาเลี้ยงต่อมรากผมที่มี interleukin-1 $\beta$  ที่ความเข้มข้นสูง (10 ng/ml)

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### อุปกรณ์และน้ำยาเลี้ยงต่อมรากผม

William E medium (Gibco BRL), L-Glutamine (Gibco BRL), penicillin/Streptomycin (Gibco BRL), hydrocortisone (Sigma), insulin (Sigma), tissue culture plates (24-well plate), Laminar flow, CO<sub>2</sub>- incubator, sterile pipets, pipet tips, eppendorfs,

#### สารเคมี, antibody และอุปกรณ์สำหรับ immunohistochemistry

กรณีที่ไม่ได้กล่าวอ้างถึงโดยเฉพาะ สารเคมีจะซื้อจาก Sigma St. Louis

Human Interleukin-1beta recombinant, monoclonal mouse anti human androgen receptor antibody (Dako, Denmark As), monoclonal mouse anti androgen receptor antibody (Santa cruz biotechnology), monoclonal rabbit anti human androgen receptor antibody (Cell Signaling, USA), anti-rabbit/anti-mouse poly HRP IHC detection kit (Chemicon, USA), SignalStain Boost IHC Detection Reagent (rabbit) (Cell Signaling, USA), Novalink polymer detection system (Chemoscience, USA), formaldehyde, paraffin embedding ring and mold, embedding paraffin, xylene, absolute alcohol และ 95% alcohol, hydrogen peroxide, isopentain, OTC embedding compound, hematoxylin nuclear staining, proteinase K, trypsin, polysine coated slide และ Superfrost plus slide, Pap pen, glass coverslips, Coplin jar, DAB solution

#### การเก็บแยกต่อมรากผมจากหนังศีรษะ

ผิวหนังบริเวณศีรษะเก็บจากผู้ที่มาทำศัลยกรรมดึงหน้า (facelift) ที่มีอายุตั้งแต่ 40-60 ปี เพศหญิง (N = 10) และชาย (N = 6) สุขภาพสมบูรณ์ หนังศีรษะได้รับความอนุเคราะห์จากโรงพยาบาลยันฮี จรัญสนิทวงศ์ 90 กรุงเทพฯ หนังศีรษะที่ได้ต้องมีผมติดมาด้วยโดยเฉพาะที่บริเวณ frontal area จากนั้นแยกชิ้นหนังหนังกำพร้าออกจากชั้นใต้ผิวหนังโดยใช้ใบมีดผ่าตัดร่วมกับการใช้กล้อง bright-field stereoscope จากนั้นใช้ปากคีบดึงแยกต่อมรากผมออกจากชั้นไขมันที่อยู่ใต้ผิวหนัง ออกมาเป็นต่อมรากผมเดี่ยวๆที่มี dermal sheath หุ้มล้อมรอบ และไม่มีต่อมไขมันติดขึ้นมาเพื่อให้ผมที่งอกออกมา มี root sheath หุ้มล้อมรอบผม

#### การเลี้ยงต่อมรากผม

1. นำต่อมรากผมที่แยกมาจากหนังศีรษะ ทำการคัดแยกต่อมรากผมออกเป็น 3 ระยะ ดังนี้ ระยะเจริญ (anagen phase) ทำการแบ่งต่อมรากผมแต่ละระยะออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1: นำต่อมรากผมระยะ anagen และหนังศีรษะมาแช่ใน 10% neutral buffer formalin เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาเตรียมชิ้นเนื้อสำหรับทำ paraffin section และบางส่วนของหนังศีรษะและต่อมรากผมที่แยกออกได้นำมาจุ่มใน isopentain ที่อยู่ใน dry ice พอชิ้นเนื้อแข็งตัวเก็บใน -80°C สำหรับทำ cryosection

กลุ่มที่ 2: นำต่อมรากผมเฉพาะที่อยู่ในระยะเจริญ (anagen phase) มาเพาะเลี้ยงแบบ free floating ใน 24-well culture plate ที่มีอาหารเลี้ยงต่อมรากผมที่ประกอบด้วย William 's E medium 500  $\mu$ l ที่เติม insulin 10  $\mu$ g/ml, L-

glutamine 2mM, hydrocortisone 10 ng/ml, penicillin 100 units/ml และ streptomycin 100 µg/ml เพาะเลี้ยงต่อมรากผมในตู้เพาะเซลล์ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C มีส่วนผสมของ CO<sub>2</sub> 5% และอากาศ 95% ต่อมรากผมจะถูกเพาะเลี้ยงอยู่ประมาณ 2 วัน เพื่อให้มั่นใจว่าต่อมรากผมที่นำมาใช้ในการทดลองอยู่ระยะเจริญ (anagen phase) และมีการงอกของผมในอัตราปกติ จากนั้นจึงนำมาทำการแบ่งต่อมรากผมออกเป็น 3 กลุ่ม

**กลุ่มที่ 2.1:** ทำการเพาะเลี้ยงต่อมรากผม เปลี่ยนอาหารเลี้ยงต่อมรากผมทุกๆ 2 วัน พอลครบ 4 วัน ทำการเก็บต่อมรากผม

**กลุ่มที่ 2.2:** เติม IL-1β 10 ng/ml ลงในอาหารเลี้ยงต่อมรากผม เปลี่ยนอาหารเลี้ยงต่อมรากผมพร้อมกับเติม IL-1β 10 ng/ml ทุกๆ 2 วัน พอลครบ 4 วัน ทำการเก็บต่อมรากผม

**กลุ่มที่ 2.3:** ทำเหมือนกลุ่มที่ 2.2 แต่ทำการเพาะเลี้ยงต่อไปและเปลี่ยนอาหารเลี้ยงต่อมรากผมทุกๆ 2 วัน พร้อมกับเติม IL-1β 10 ng/ml ทำต่อเนื่องจนกว่า hair shaft จะหลุดออกจากต่อมรากผม ทำการเก็บต่อมรากผม

ต่อมรากผมที่เก็บได้จากการทดลองทั้งหมดนำมาแช่ใน 10% neutral buffer formalin เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาเตรียมชิ้นเนื้อสำหรับทำ paraffin section และย้อมด้วย Hematoxylin เพื่อศึกษาลักษณะทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของต่อมรากผม และต่อมรากผมบางส่วนนำมาย้อมด้วย anti-androgen receptor โดยวิธี immunohistochemistry เพื่อนำมาศึกษาการแสดงออกของ androgen receptor

## Immunohistochemistry สำหรับ androgen receptor

การเตรียม Paraffin section

1. หนังศีรษะ และต่อมรากผมที่ผ่านการรักษาสภาพใน 10% neutral buffer formalin นำมาผ่านขบวนการเตรียมชิ้นเนื้อเพื่อฝังลงในพาราฟิน และนำมาตัดให้หนา 4-5 micron ด้วยเครื่อง microtome วางลงบน Superfrost plus slide หรือสไลด์แก้วที่เคลือบด้วย 3-aminopropyltriethoxysilane ทิ้งไว้ให้แห้ง บางส่วนของ tissue section ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาพยาธิวิทยา โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ นำไปย้อมด้วยเครื่อง autostainer

2. Deparaffinization โดยการล้าง tissue slides ด้วย xylene ตามด้วยการ rehydrate โดยการแช่ tissue slides ใน alcohol จากเปอร์เซ็นต์สูงไปต่ำ จากนั้นแช่ในน้ำกลั่นเพื่อเติมน้ำเข้าเซลล์

3. Blocking endogenous enzyme ด้วย 3% hydrogen peroxide ในน้ำ

4. การคืนสภาพแอนติเจน (antigen retrieval) ทำใน humidity box แสดงในตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** วิธีการคืนสภาพแอนติเจน

| Enzyme antigen retrieval technique                        | วิธีการทำ  |
|---|--|
| 1. 0.1% Trypsin ใน CaCl <sub>2</sub> pH 7.8               | - preheat เอ็นไซม์ ให้ได้ 37°C หยดลงบน tissue slides |
| 2. 0.1% Proteinase K ใน 0.05 mol/L Tris/HCl buffer pH 7.5 | - incubate 37°C ประมาณ 5-10 นาที                     |
| <b>Heat induced antigen retrieval technique</b>           | - แช่ tissue slides ในสารละลาย                       |
| 1. Sodium citrate buffer (10mM Sod citrate, pH 6)         | - ใช้ microwave oven ตั้ง high power 3 นาที          |
| 2. 1mM EDTA, pH 8   | defrost power 6-10 นาที                              |
| 3. Tris/EDTA buffer (10mM Tris base, 1 mM EDTA, pH 9)     | - ทิ้งให้เย็นประมาณ 25 นาที                          |

ล้าง tissue slides ด้วย น้ำประปา 5 นาที ตามด้วยน้ำกลั่น 1 นาที

5. Block non-specific protein blocking ด้วย 5% normal goat serum 60 นาที ซับออก

6. Primary antibody

- Monoclonal mouse anti human androgen receptor (Santa cruz) amino acids 229-315 in N-terminal
- Monoclonal mouse anti human androgen receptor (Dako) amino acids 229-315 in N-terminal
- Androgen receptor (D6F11) XP rabbit monoclonal antibody (Cell Signalling) total androgen receptor protein

Dilute primary antibody (1:100) ด้วย SignalStain antibody Diluent (Cell Signaling) หยดลงใน tissue slides และ incubate ใน humid box 24 ชั่วโมง ที่ 4°C

7. ล้าง tissue slides ด้วย Tris buffer saline (TBS) 2x5 นาที

8. Incubate tissue slides 30 นาที ด้วย

- SignalStain Boost IHC detection reagent (HRP, rabbit; Cell Signaling)
- Novalink Polymer Detection system for mouse/rabbit antibody (Chemoscience)
- Envision system (Dako)

9. ล้าง tissue slides ด้วย Tris buffer saline (TBS) 2x5 นาที

10. Develop peroxidase activity ด้วย DAB solution

11. Counterstain ด้วย hematoxylin ตามด้วยการ dehydrate โดยการผ่าน tissue slides ใน alcohol จากเปอร์เซ็นต์ต่ำไปสูงเพื่อกำจัดน้ำออก ตามด้วยการแช่ xylene ตามด้วยการ mounting ด้วย mounting media ปิดทับด้วย coverslide ทิ้งไว้ 1-2 วัน ทำการบันทึกภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ การเตรียม Cryosection

1. หนึ่งสัปดาห์ และต่อมรากผมที่เก็บใน -80 °C นำมาฝังลงใน OCT embedding media และ snap freeze ด้วย dry ice-chilled ethanol/isopentane ตัด frozen tissue block ด้วยเครื่อง cryostat ให้หนา 4-5 micron ทิ้งให้แห้ง ประมาณ 10 นาที (สามารถเก็บ tissue section ใน -80 °C)

2. Fix section ใน (1) acetone 10 นาที (2) acetone 10 นาที ตามด้วย 4% neutral buffer formalin

3. ทำตามขั้นตอนที่ 5-11 ของ paraffin section แต่ใช้ เฉพาะ androgen receptor (D6F11) XP rabbit monoclonal antibody (Cell Signaling) total androgen receptor protein และ Novalink Polymer Detection system for mouse/rabbit antibody (Chemoscience)

## บทที่ 4

### ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

#### Microscopic structure ของหนังศีรษะ

Paraffin-embedding section และ frozen section ของหนังศีรษะที่ได้จากการทำศัลยกรรมดึงหน้า ประกอบด้วย ต่อมรากผม (hair follicle) อยู่ในชั้น dermis มีส่วนของต่อมไขมัน (sebaceous gland) เกาะอยู่ที่ส่วนต้นของ follicle มีกลุ่มของต่อมเหงื่อ (sweat gland) กระจายอยู่ทั่วไปใน ชั้น dermis ใกล้กับต่อมรากผม (รูปที่ 1) ที่ต่อมรากผม มีส่วนของ dermal papilla อยู่ที่ส่วนปลายสุดตรงบริเวณ hair bulb ที่ตรง hair bulb มี melanocytes ที่สร้าง melanin pigment อยู่ล้อมรอบ dermal papilla แต่อาจพบว่ามี melanin pigment กระจายเข้ามาใน dermal papilla ได้ (รูปที่ 1F)

#### Immunohistochemistry for androgen receptor ในหนังศีรษะ

การแสดงออกของ androgen receptor ใน paraffin-embedded sections ของหนังศีรษะที่ fix ด้วย 10% neutral buffer formalin จะพบว่า antigen receptor อยู่จำเพาะในนิวเคลียส (nuclear staining) ที่เซลล์ผิวหนัง ต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ และต่อมรากผมบางต่อม (รูปที่ 2) ไม่พบว่ามี androgen receptor ในชั้นไฮพลาสมา ไม่พบความแตกต่างในการทำ immunohistochemistry ด้วยตัวเอง กับการย้อมด้วยเครื่อง autostain (รูปที่ 3) และไม่พบว่ามีผลแตกต่างของการย้อมติด androgen receptor เมื่อใช้ความเข้มข้นของ antibody ที่แตกต่างกัน ความเข้มข้นของ antibody ที่เหมาะสมในการทำ immunohistochemistry สำหรับ paraffin section อยู่ที่ความเข้มข้น 1:100-1:500 (ไม่มีรูปประกอบ)

เปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนเซลล์ที่มี androgen receptor ในหนังศีรษะ ที่ผ่านการคืนสภาพแอนติเจน ด้วยวิธี Heat induced antigen retrieval technique ต่างกัน และการใช้ antibody และ detection system ที่ต่างกัน สรุปผล ไว้ที่ตารางที่ 2 รูปที่ 4 สรุปได้ว่า การคืนสภาพ แอนติเจนที่เหมาะสมในการศึกษา androgen receptor ที่ผิวหนัง คือการใช้ heat induced antigen retrieval technique ร่วมกับ Sodium citrate buffer (10mM Sod citrate, pH 6) หรือ Tris/EDTA buffer (10mM Tris base, 1 mM EDTA, pH 9) โดยใช้ high power 3 นาที และ defrost ที่ 6 นาที จะให้ผลที่ดีที่สุด และ detection system ที่เหมาะสมในการใช้ คือ NovaLink Polymer Detection system for mouse/rabbit antibody (Chemoscience) เพราะให้การติดสีที่คมชัด

Frozen sections ที่ fix ด้วย acetone หรือ acetone + 4% neutral buffer formalin พบ androgen receptor อยู่จำเพาะในนิวเคลียส (nuclear staining) (รูปที่ 9-11) เหมือนกับที่พบใน paraffin section และ ไม่พบว่ามี androgen receptor ในชั้นไฮพลาสมาของเซลล์ เซลล์ที่พบว่ามี androgen receptor เช่น ผิวหนัง, ต่อมเหงื่อ ต่อมไขมัน และที่ต่อมรากผม พบว่านอกจาก เซลล์ใน dermal papilla จะมี androgen receptor ยังพบว่า external root sheath cells มีการแสดงออกของ androgen receptor (รูปที่ 9C) ส่วน antibody dilution ที่เหมาะสมสำหรับ frozen section คือ 1: 1000 ข้อเสียของ frozen section คือการที่โครงสร้างของเซลล์จะรักษาไว้ไม่ได้ดีเท่ากับ paraffin section เพราะเกิดการบิดเบี้ยวของเซลล์มากกว่า แต่การแสดงออกของ androgen receptor ในนิวเคลียสเห็นได้เด่นชัดดีกว่า paraffin section

## Immunohistochemistry for androgen receptor ในต่อมรากผมปกติ

ต่อมรากผมที่แยกออกมาจากหนังศีรษะตัดแยกเฉพาะที่อยู่ในระยะ anagen แยกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มแรกนำมา fix ด้วย 10% neutral buffer formalin หรือ snap freeze เพื่อนำมาทำ paraffin section และ cryosection ตามลำดับ ศึกษาการแสดงออกของ androgen receptor ด้วยวิธี immunohistochemistry พบว่า paraffin section ของต่อมรากผมที่นำมาคืนสภาพแอนติเจนด้วยการใช้ เอ็นไซม์ 0.1% proteinase K ใน 0.05 mol/L Tris/HCl buffer pH 7.5 เป็นเวลา 5 นาที (รูปที่ 5) จะดีกว่าการใช้ 0.1% Trypsin ใน  $\text{CaCl}_2$  pH 7.8 เพราะไม่ได้ย่อยส่วนประกอบของเซลล์มากเกินไป แต่ในการทดลองต่อมา การคืนสภาพแอนติเจนด้วยโดยใช้ความร้อนและสารเคมีเป็นวิธีที่ดีที่สุด ไม่ว่าจะเป็นการใช้ Sodium citrate buffer (10mM Sod citrate, pH 6) high power 3 นาที และ defrost ที่ 6 นาที แต่ถ้าเป็น Tris/EDTA buffer (10mM Tris base, 1 mM EDTA, pH 9) ใช้ high power 3 นาที และ defrost ที่ 10 นาที จะให้ผลที่ดีที่สุด

ต่อมรากผมกลุ่มที่ 2 หลังจากแยกจากหนังศีรษะจะถูกนำมาเลี้ยงในน้ำยาเลี้ยงต่อมรากผม เป็นเวลา 4 วัน ต่อมรากผมถูกเก็บตามเวลาตั้งแต่ 3 ชั่วโมง ถึง 4 วัน จากนั้นนำมา fix ด้วย 10% neutral buffer formalin และผ่านการทำ paraffin section และคืนสภาพแอนติเจนโดยใช้ 10mM Tris base, 1 mM EDTA, pH 9 ใช้ high power 3 นาที และ defrost ที่ 10 นาที ต่อมรากผมที่เพาะเลี้ยงได้ 6 ชั่วโมง จะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ใน dermal papilla ที่มีการแสดงออกของ androgen receptor (รูปที่ 7C)

## ผลของ interleukin-1 $\beta$ ที่มีต่อการแสดงออกของ androgen receptor ในต่อมรากผม

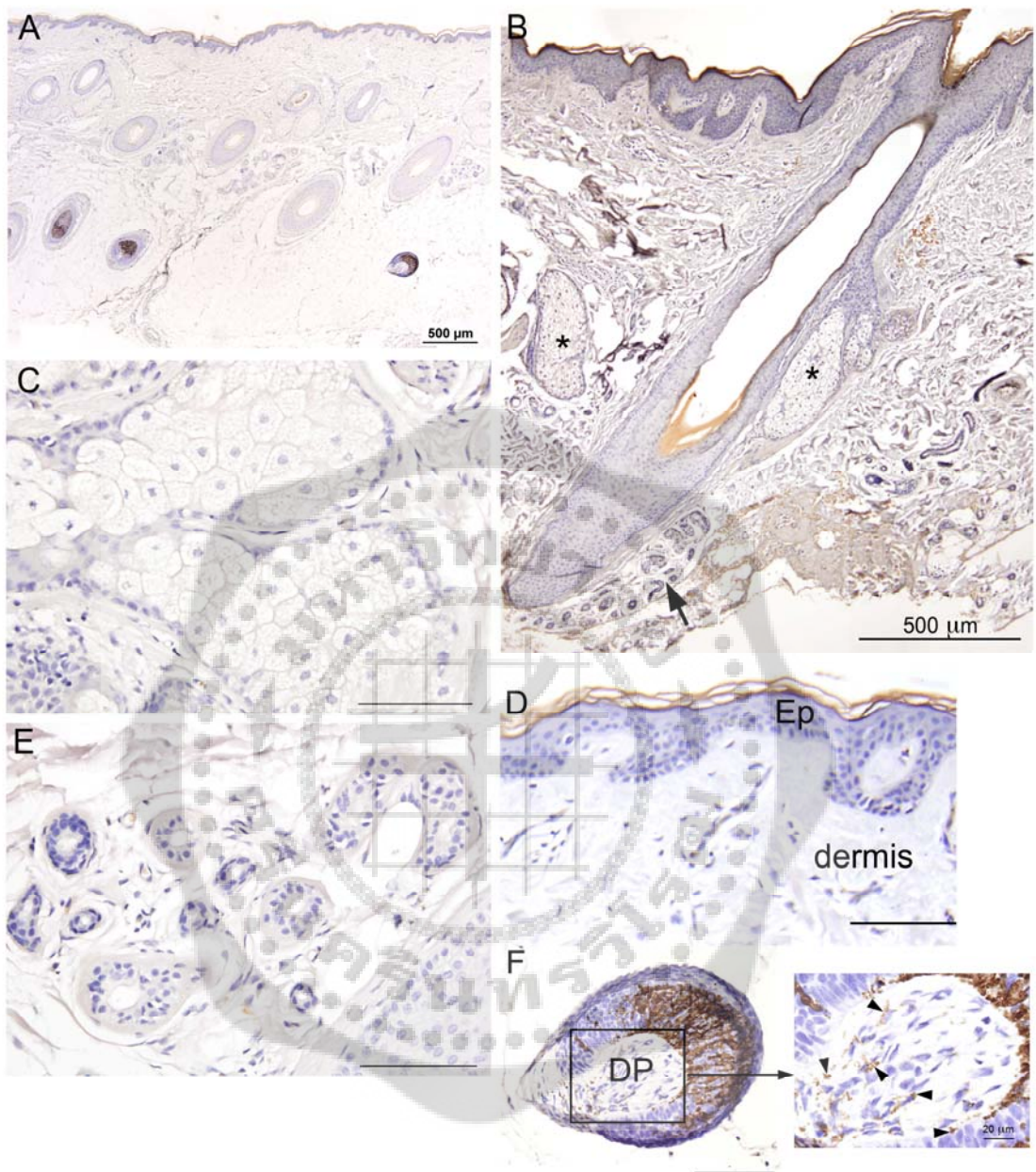
ต่อมรากผมกลุ่มที่ 3 หลังจากแยกจากหนังศีรษะจะถูกนำมาเลี้ยงในน้ำยาเลี้ยงต่อมรากผมที่เติม interleukin-1 $\beta$  10 ng/ml เป็นเวลา 4 วัน ต่อมรากผมถูกเก็บตามเวลาตั้งแต่ 3 ชั่วโมง ถึง 4 วัน จากนั้นนำมา fix ด้วย 10% neutral buffer formalin และผ่านการทำ paraffin section และคืนสภาพแอนติเจนโดยใช้ 10mM Tris base, 1 mM EDTA, pH 9 ใช้ high power 3 นาที และ defrost ที่ 10 นาที หรือ ใช้ Sodium citrate buffer (10mM Sod citrate, pH 6) high power 3 นาที และ defrost ที่ 6 นาที พบว่า dermal papilla ของต่อมรากผมหลังจากได้รับ interleukin-1 $\beta$  มีการแสดงออกของ androgen receptor น้อยลง โดยพบประปราย และไม่ปรากฏว่าพบ androgen receptor ใน dermal papilla cells จากต่อมรากผมที่เติม interleukin-1 $\beta$  4 วัน (รูปที่ 7 M, T)



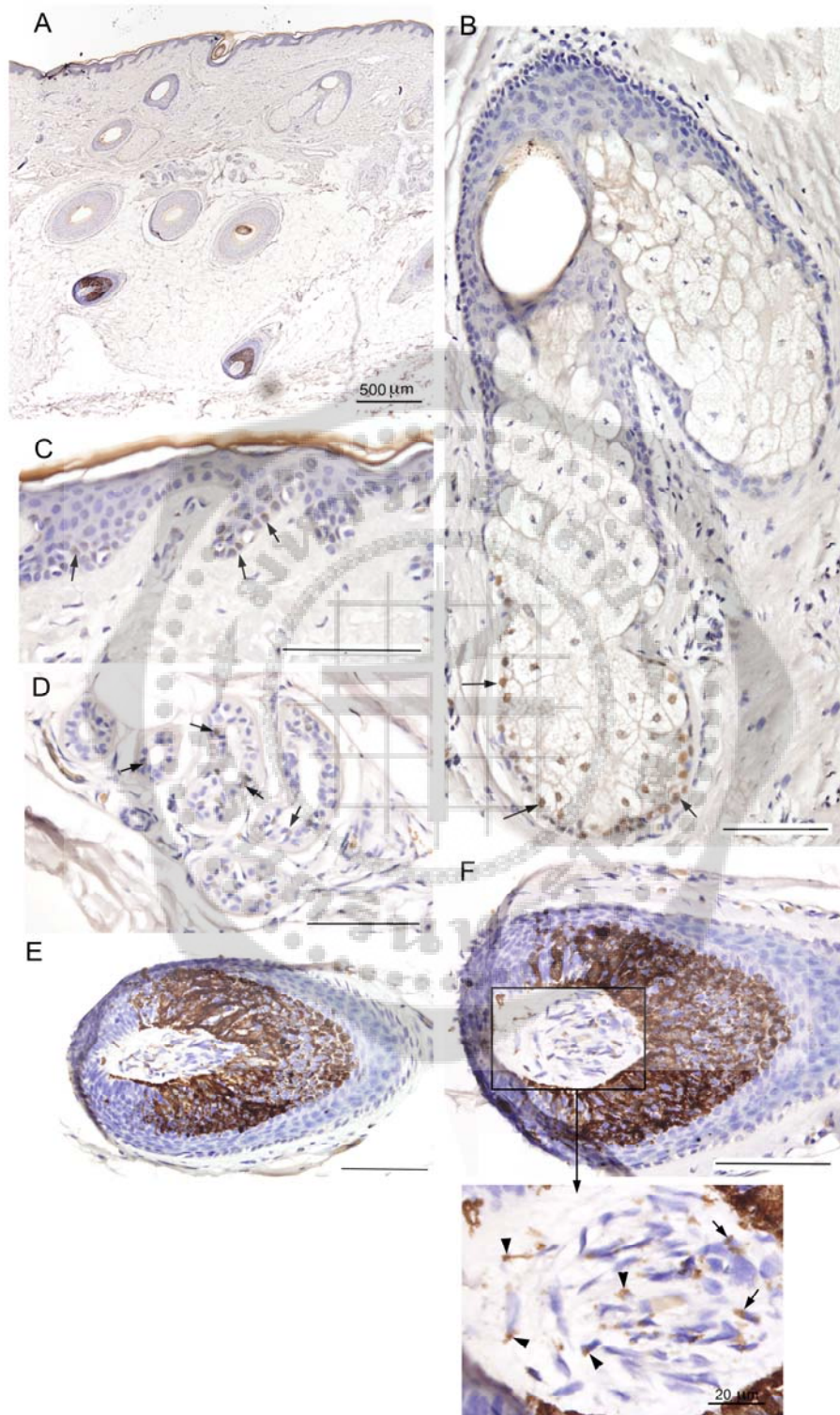
ตารางที่ 2 Immunohistochemical localization of androgen receptor with antibody and their detection system (paraffin section)

| Location               | AB (Santa cruz)+Anti-mouse/Rabbit<br>Poly HRP IHC detection kit |      |           | AB (Dako)+Envision detection<br>system kit |      |           | AB (Cell signaling)+Signal stain<br>boost IHC detection reagent (HRP) |      |           | AB (Cell signaling)+Novalink<br>polymer detection system |      |           |
|------------------------|---|------|-----------|--|------|-----------|---|------|-----------|--|------|-----------|
|                        | Citrate   | EDTA | TE buffer | Citrate                                    | EDTA | TE buffer | Citrate   | EDTA | TE buffer | Citrate  | EDTA | TE buffer |
| <b>Sebaceous gland</b> |   |      |           |  |      |           |   |      |           |  |      |           |
| - Basal cells          | +   | +    | +         | ++   | ++   | ++        | ++  | +++  | ++        | +++  | +++  | +++       |
| - Sebocytes            | +   | +    | +         | ++   | ++   | ++        | ++  | +++  | ++        | +++  | +++  | +++       |
| <b>Sweat gland</b>     |   |      |           |  |      |           |   |      |           |  |      |           |
| - Secretory cells      | +   | +    | +         | ++   | ++   | ++        | ++  | ++   | ++        | +++  | +++  | +++       |
| - Duct                 | +   | +    | +         | ++   | ++   | ++        | ++  | ++   | ++        | +++  | +++  | +++       |
| Epidermis              | +   | +    | +         | ++   | ++   | ++        | ++  | ++   | ++        | +++  | +++  | +++       |
| <b>Hair follicle</b>   |   |      |           |  |      |           |   |      |           |  |      |           |
| - outer root sheath    | -   | -    | -         | -  | -    | -         | -   | -    | -         | -  | -    | -         |
| -dermal papilla cells  | +/-   | +/-  | +/-       | +/-  | +/-  | +/-       | +/-   | +/-  | +/-       | +/-  | +/-  | +/-       |

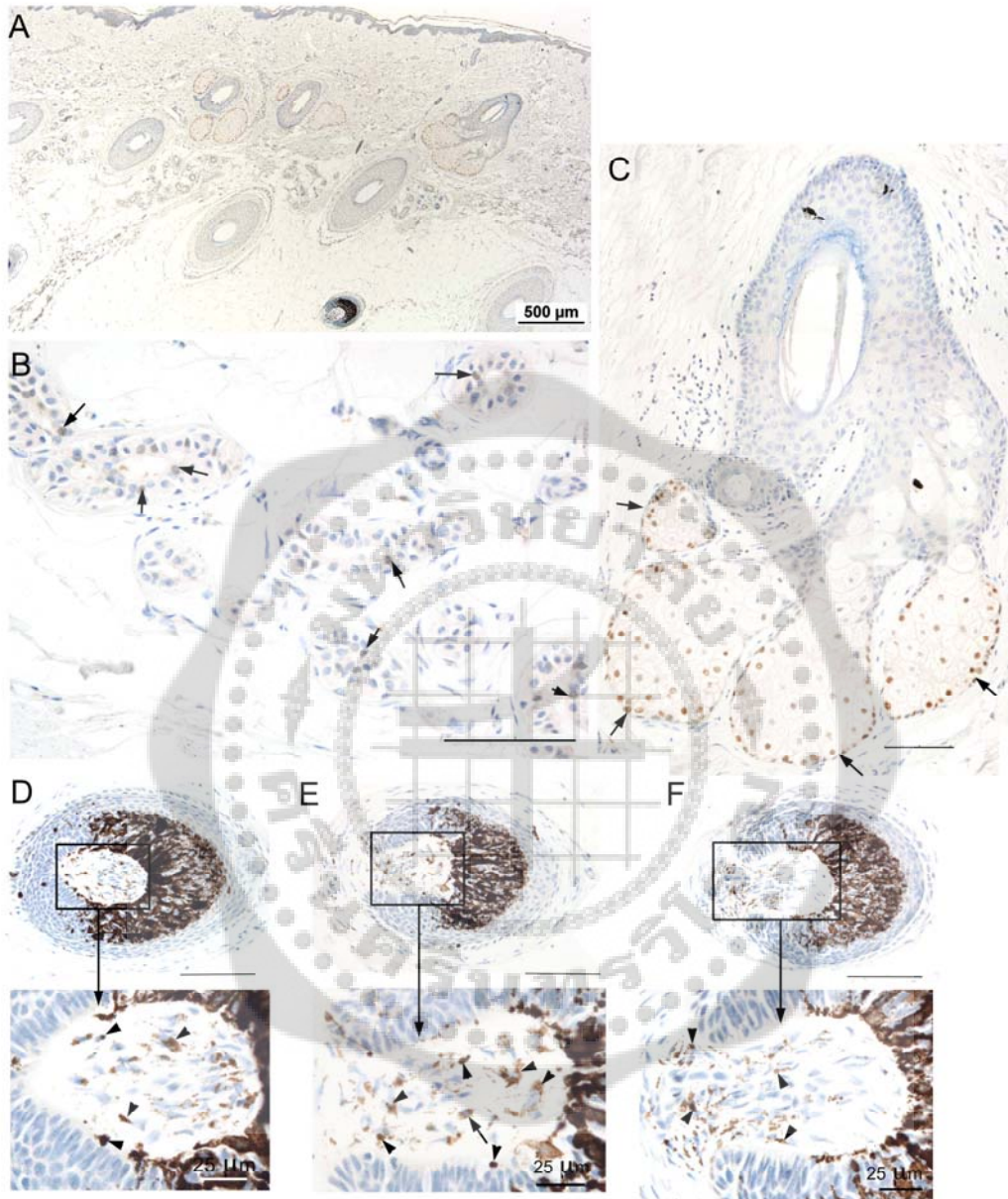
Citrate = Sodium citrate buffer (10mM Sod citrate, pH 6), EDTA = 1mM EDTA, pH 8, TE buffer = Tris/EDTA buffer (10mM Tris base, 1 mM EDTA, pH 9)



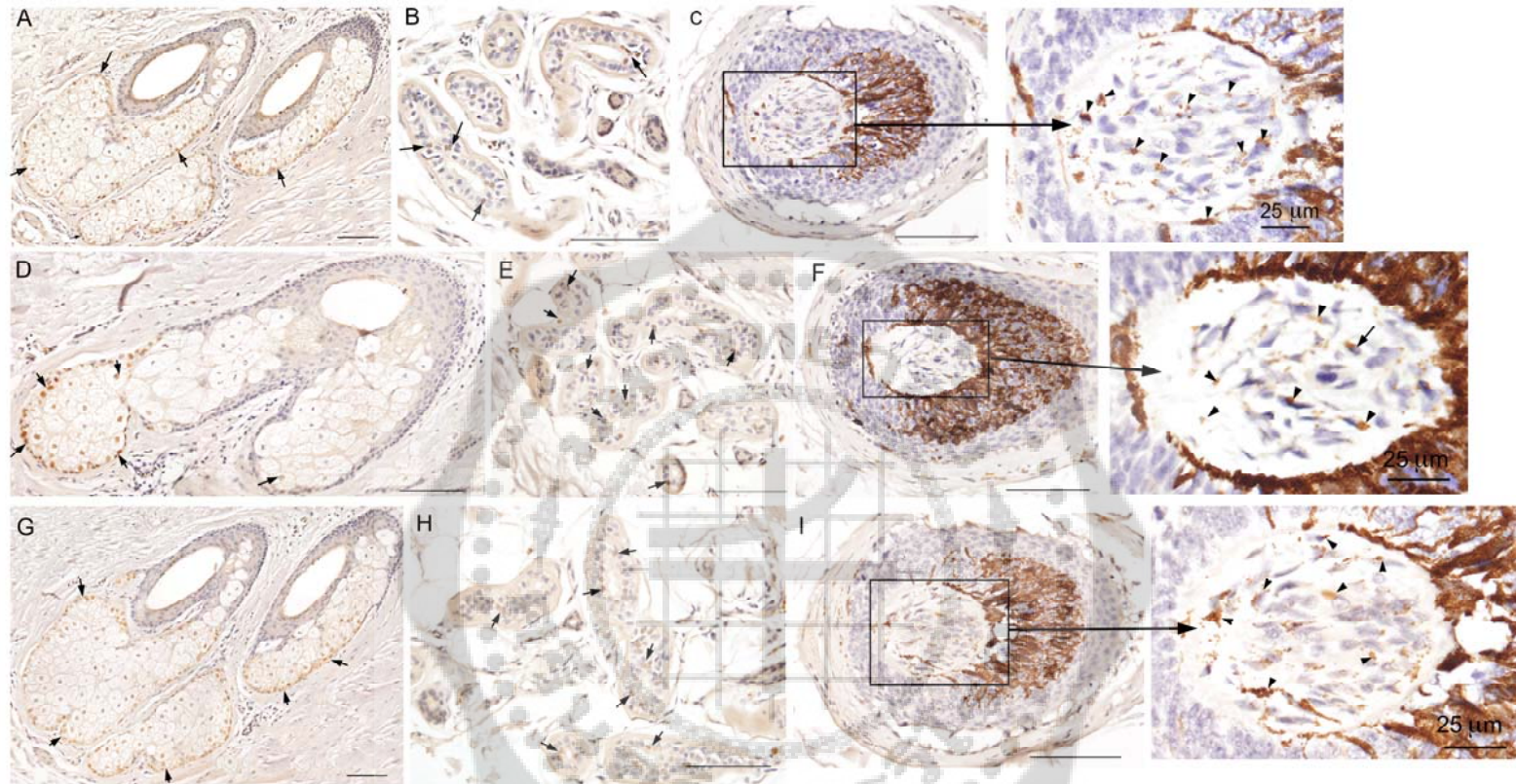
**รูปที่ 1** Paraffin section ของหนังศีรษะข้อม immunohistochemistry โดยไม่มี androgen receptor antibody (negative control): (A) หนังศีรษะ; (B) หนังศีรษะแสดงตำแหน่ง ต่อมไขมัน (\*) และต่อมเหงื่อ (ลูกศร); (C) ต่อมไขมัน; (D) ผิวหนัง, Ep = epidermis; (E) ต่อมเหงื่อ; (F) ต่อมรากผม, DP = dermal papilla; **ภาพขยาย** แสดง dermal papilla cells และ melanin pigments (หัวลูกศร) ที่แทรกเข้ามาใน dermal papilla; bar = 100 μm



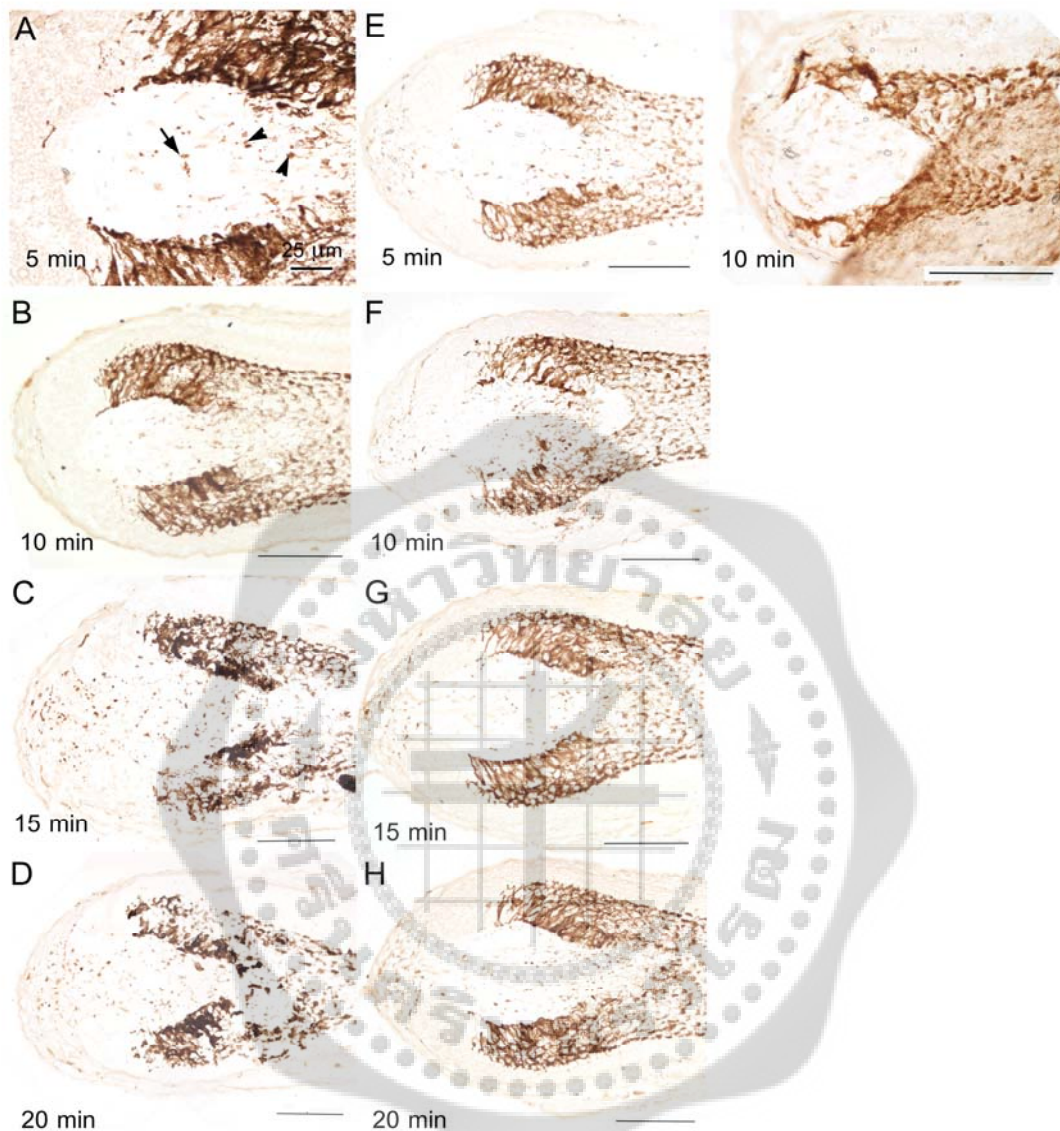
**รูปที่ 2** Paraffin section ของสัตว์ระยะย่อยม immunohistochemistry ด้วย androgen receptor antibody ทำการคั่นสภาพแอนติเจน ด้วย 10mM Citrate buffer pH 6: (A) หนังสัตว์ระยะ; (B) ต่อมไขมัน (C) ผิวหนัง (D) ต่อมเหงื่อ และ (E) ต่อมรากผม ภาพขยาย แสดง dermal papilla cells ลูกศรชี้ = เซลล์ที่มี androgen receptor, หัวลูกศรชี้ = melanin pigment, bar = 100  $\mu$ m



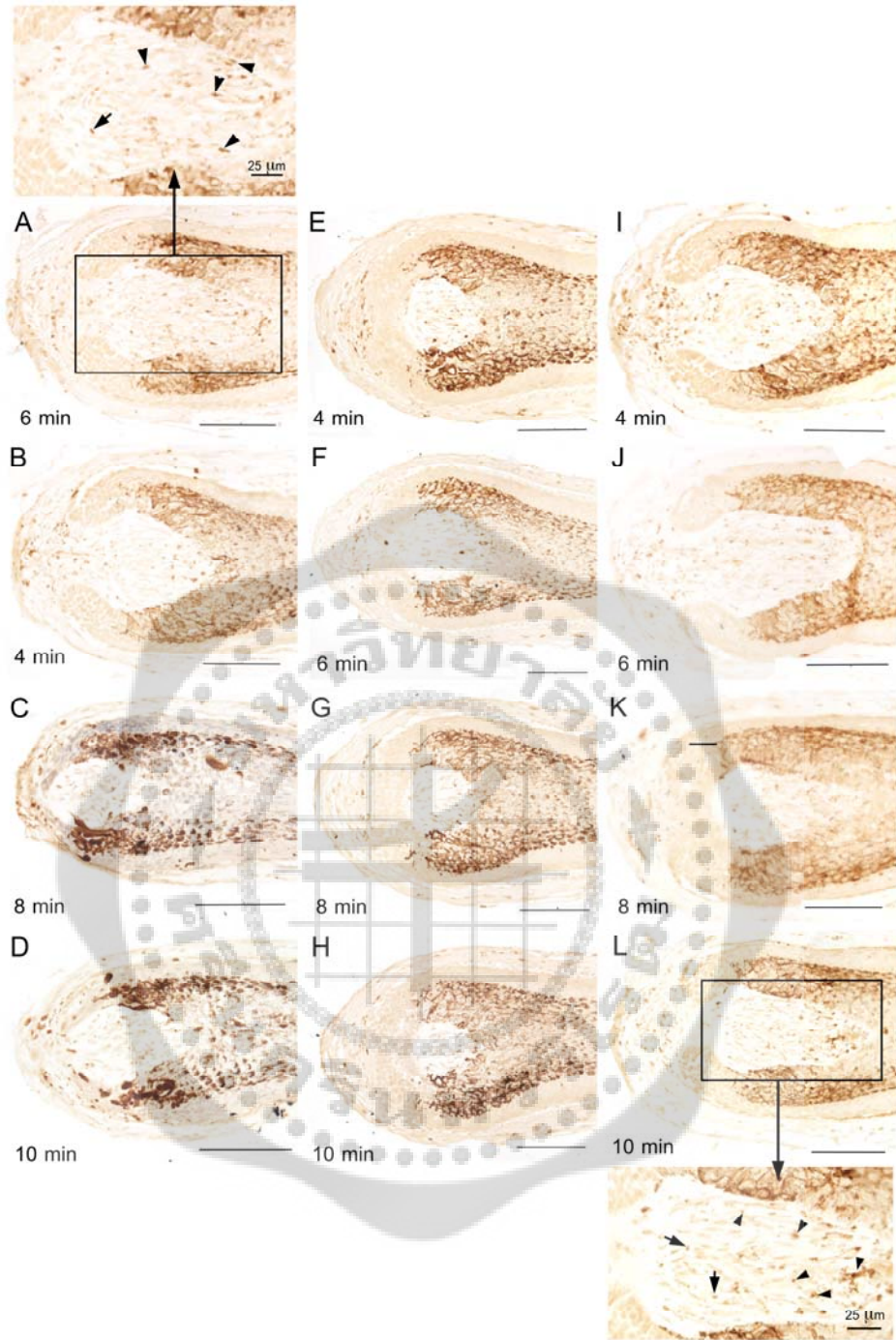
รูปที่ 3 Paraffin section ของหนังศีรษะข้อม immunohistochemistry ด้วยเครื่อง Autostain (DAKO, Denmark) androgen receptor antibody: (A) หนังศีรษะ (B) ต่อมเหงื่อ (C) ต่อมไขมัน (D-F) ต่อมรากผม ภาพขยาย จาก D, E และ F แสดง dermal papilla cells; ลูกศรชี้ = เซลล์ที่มี androgen receptor, หัวลูกศรชี้ = melanin pigment, bar = 100 μm



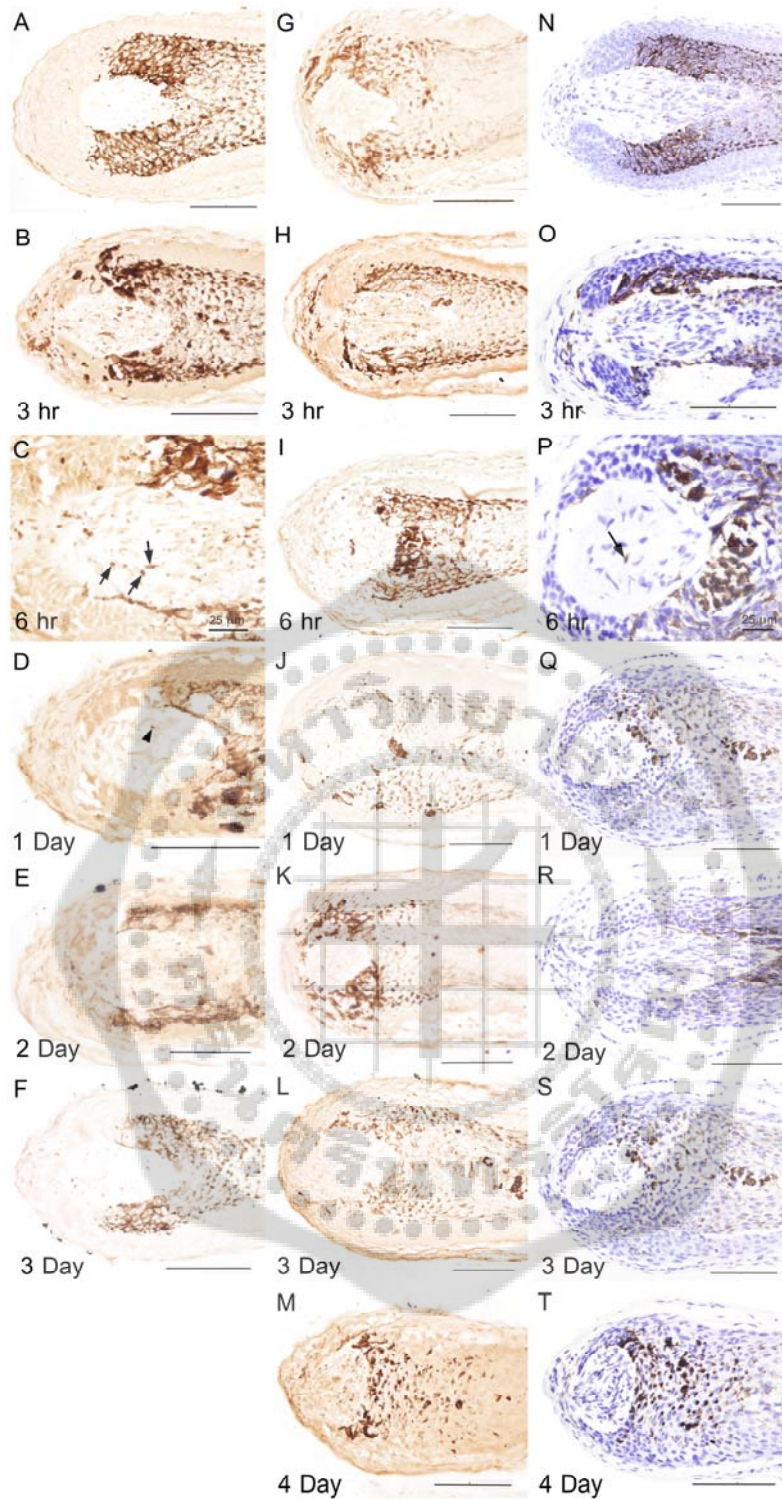
**รูปที่ 4** Paraffin section ของหนังศีรษะ เปรียบเทียบการแสดงผลของ androgen receptor ที่ต่อมไขมัน (A,D,G), ต่อมเหงื่อ (B, E, H) และต่อมรากผม (C, F, I) ทำการคืนสภาพแอนติเจนด้วยวิธีที่ต่างกัน; (A-C) 10mM Citrate buffer pH 6, (D-F) 1mM EDTA pH 8, (G-I) 10mM Tris-HCl + 1 mM EDTA pH 9 ภาพขยาย จาก C, F และ I แสดง dermal papilla cells, ลูกศรชี้ = เซลล์ที่มี androgen receptor, หัวลูกศรชี้ = melanin pigment, bar = 100  $\mu$ m



**รูปที่ 5** Paraffin section ของต่อมรากผม เปรียบเทียบการแสดงออกของ androgen receptor ใน dermal papilla ทำการคืนสภาพแอนติเจนด้วยเอนไซม์ที่ต่างกัน และเวลา incubation ตั้งแต่ 5 -10 นาที: (A-D) 0.1% Proteinase K, (E-H) 0.1% Trypsin, (I) negative control ไม่ได้ counterstain ด้วย hematoxylin; ลูกศรชี้ = เซลล์ที่มี androgen receptor, หัวลูกศรชี้ = melanin pigment bar = 100 µm

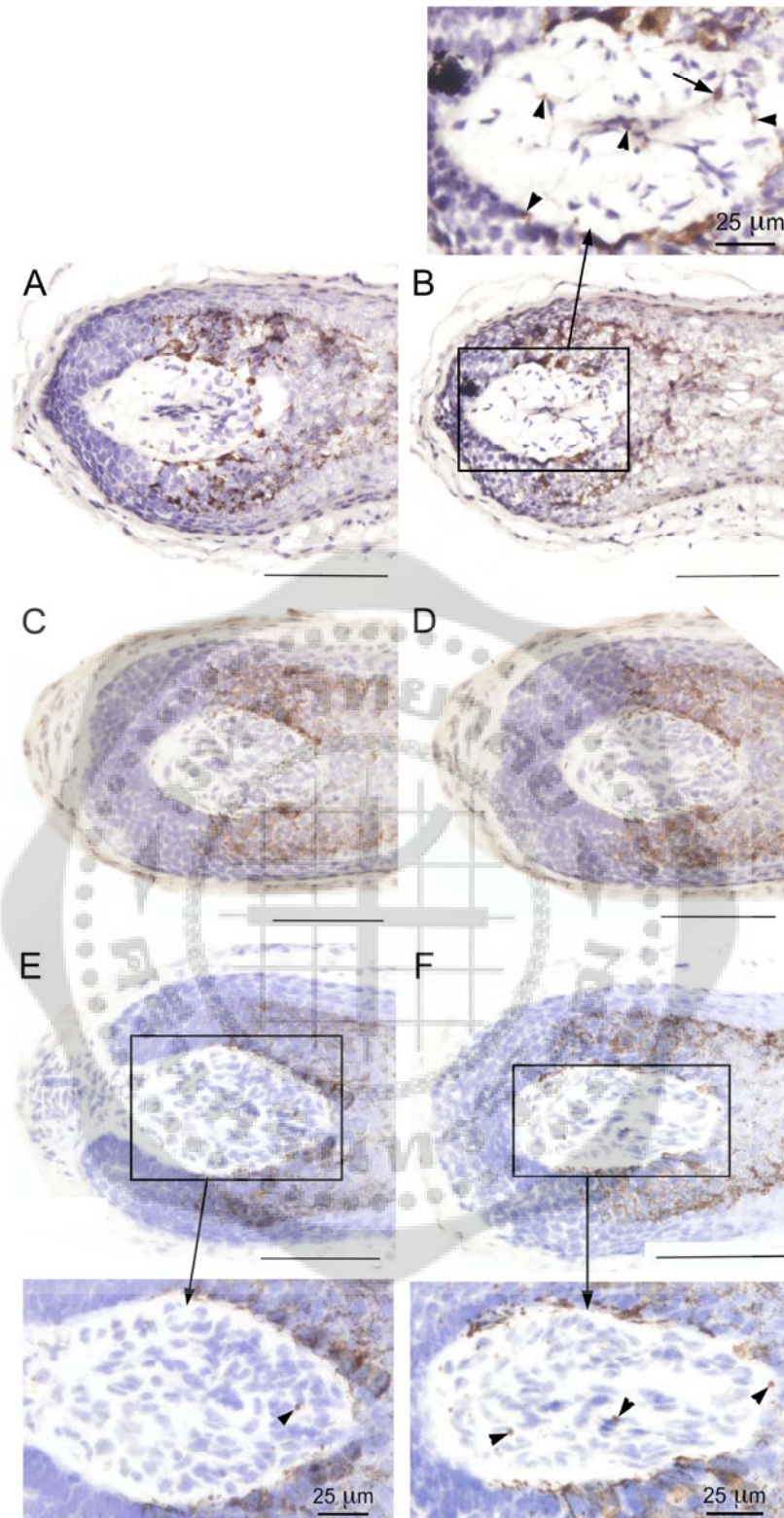


**รูปที่ 6** Paraffin section ของต่อมรากผม เปรียบเทียบการแสดงออกของ androgen receptor ใน dermal papilla การคืนสภาพแอนติเจนโดยใช้สารเคมี และให้ความร้อนด้วย microwave oven high power 3 นาที defrost power ตั้งแต่ 4-10 นาที: (A-D) 10mM Tris + 1mM EDTA pH9, (E-H) 1mM EDTA pH 8 (I-L) 10mM Citrate buffer pH 6, ไม่ได้ counterstain ด้วย hematoxylin ภาพขยาย จาก A และ L แสดง dermal papilla, ลูกศรชี้ = เซลล์ที่มี androgen receptor, หัวลูกศรชี้ = melanin pigment; bar = 100  $\mu$ m

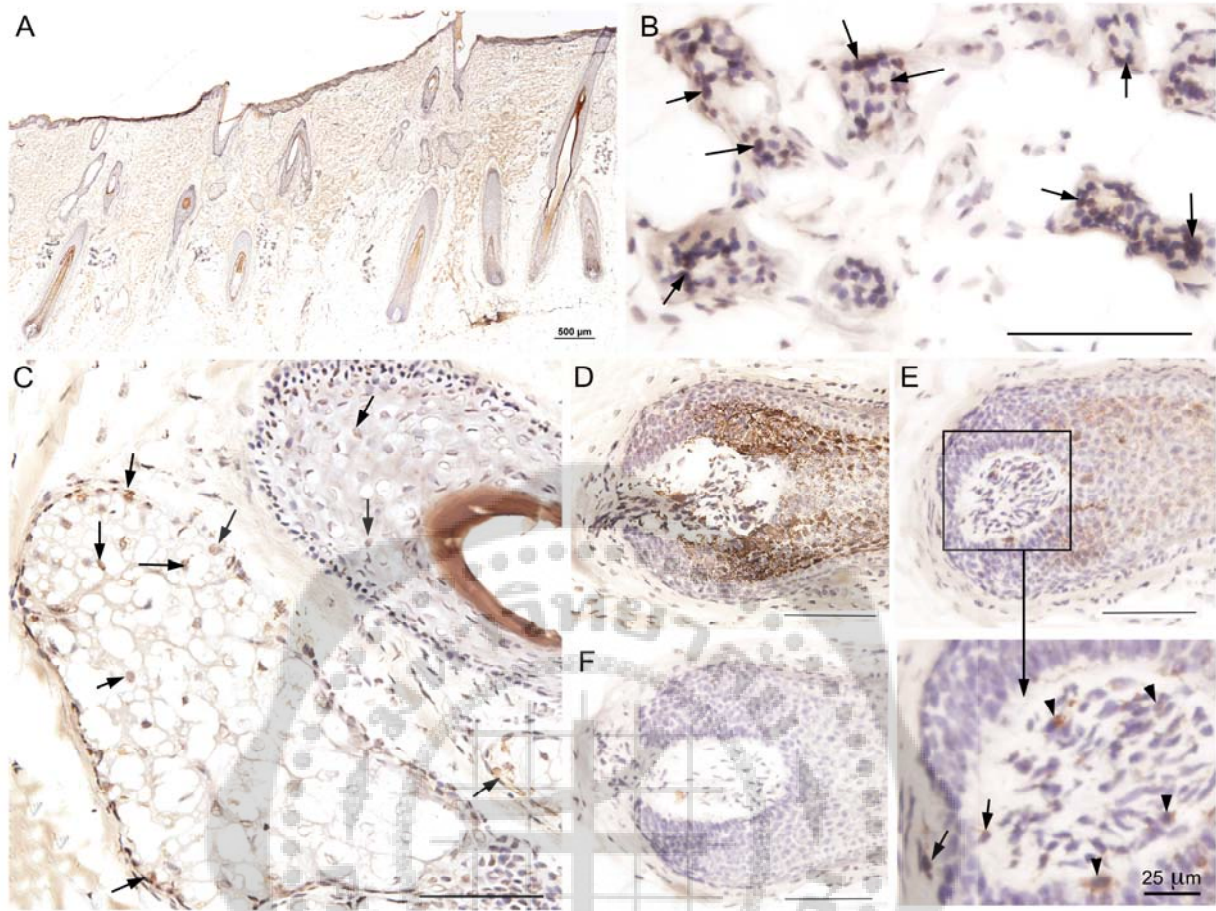


**รูปที่ 7** Paraffin section ของต่อมรากผม เปรียบเทียบการแสดงออกของ androgen receptor: (G, N) ต่อมรากผมที่แยกจากหนังศีรษะก่อนนำไปเลี้ยง (A-F) ต่อมรากผมที่นำไปเลี้ยงในน้ำยาเลี้ยงต่อมรากผมปกติ และ (H-M, O-T) ต่อมรากผมที่เติม IL-1  $\beta$  การคืนสภาพแอนติเจนทำโดยใช้สารเคมี 2 ชนิด คือ: (A-M) 10mM Tris + 1mM EDTA pH 9, (N-T) 10mM Citrate buffer pH 6; (A) negative control; ลูกศรชี้ = เซลล์ที่มี androgen receptor, หัวลูกศรชี้ = melanin pigment; bar = 100  $\mu$ m

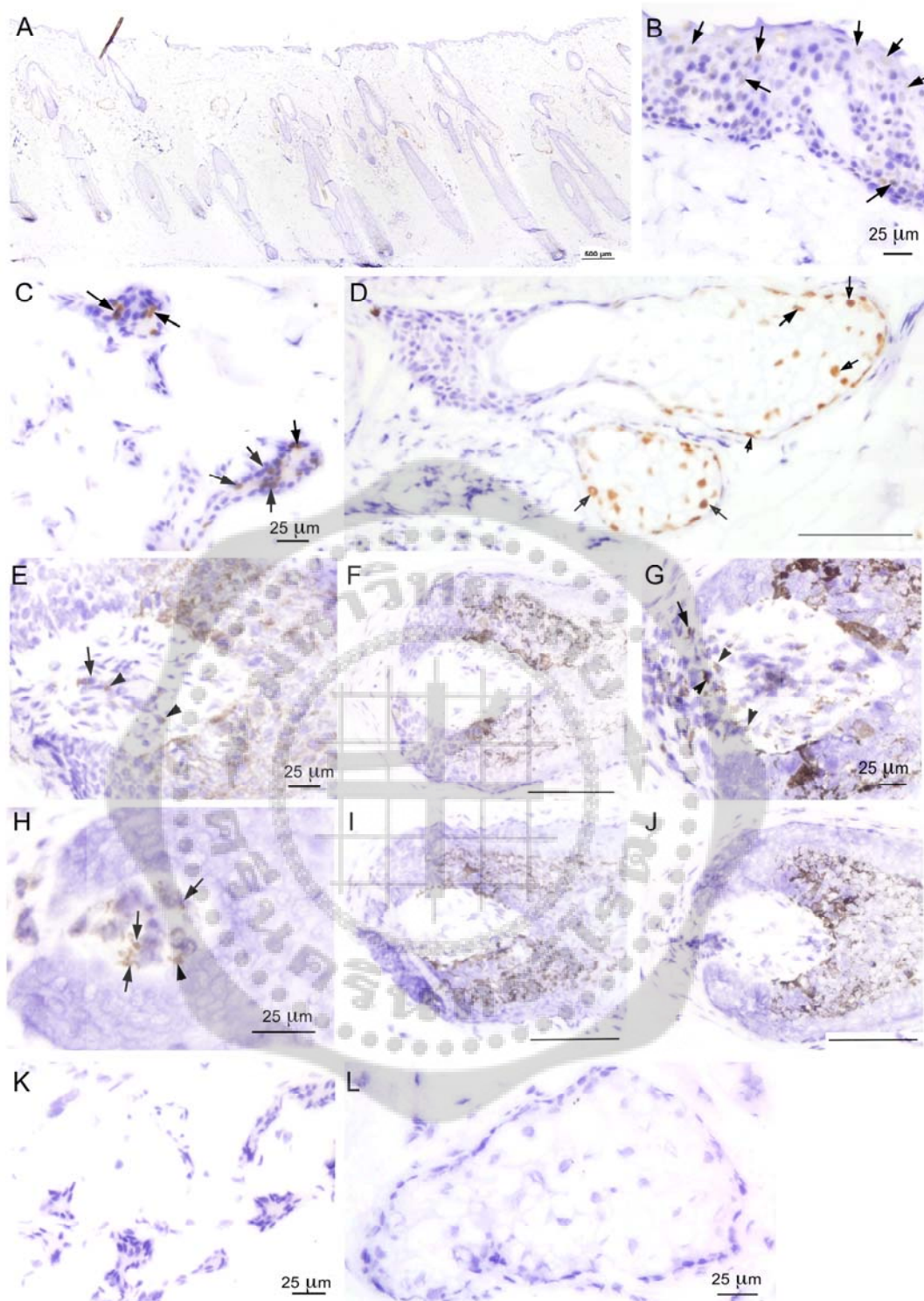




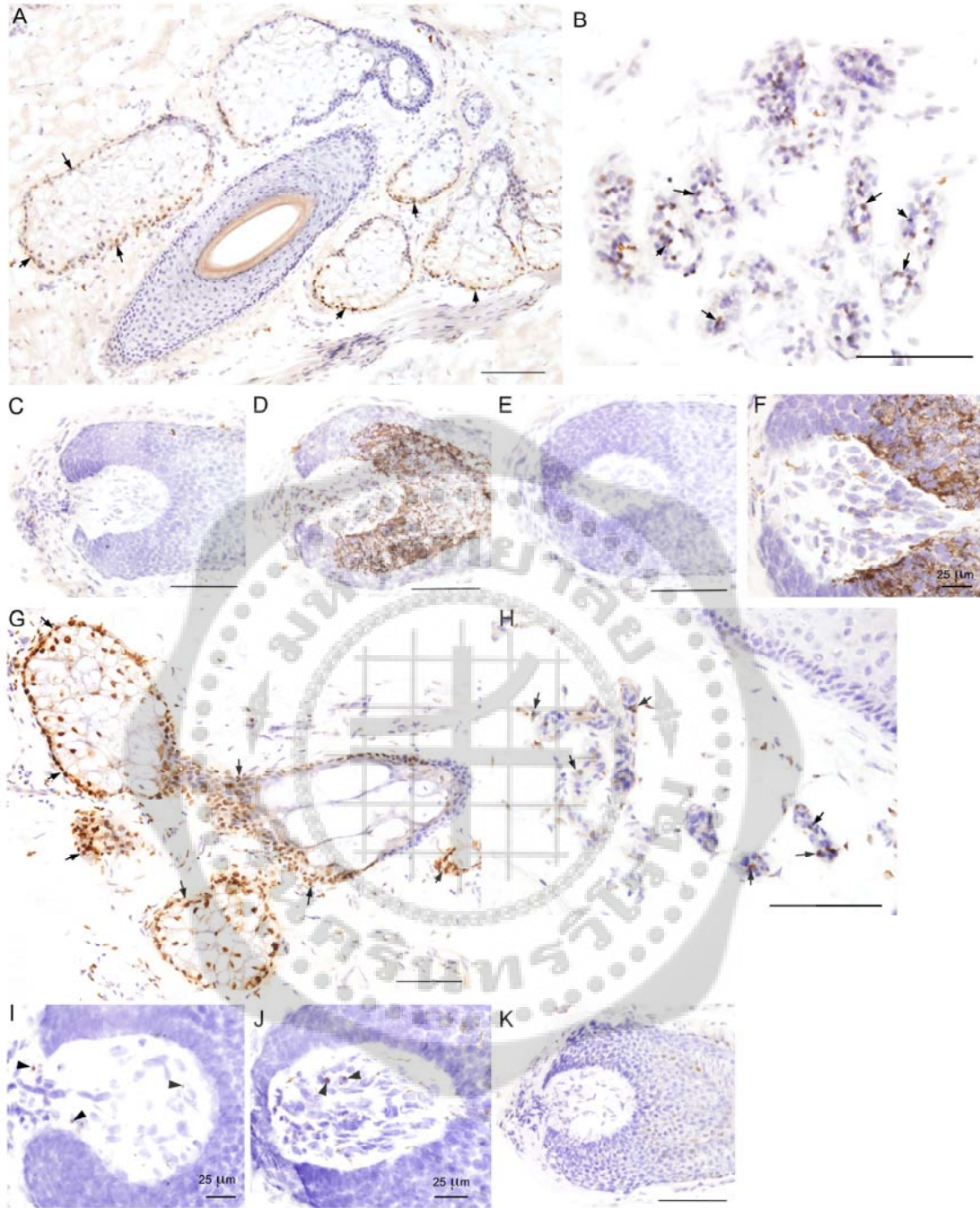
**รูปที่ 8** Frozen section ของต่อมรากผม ที่ fix ด้วย (A, B) acetone ทันที, (C, D) air dry 10 นาที acetone 10 นาที, (E, F) air dry 10 นาที acetone 10 นาที และ 4% neutral buffer formalin 10 นาที เปรียบเทียบการ แสดงออกของ androgen receptor (A, C, E) negative control, (B, D, F) มี androgen receptor antibody ภาพขยาย จาก B, E และ F แสดง dermal papilla, ลูกศรชี้ = เซลล์ที่มี androgen receptor, หัวลูกศรชี้ = melanin pigment; bar = 100 μm



**รูปที่ 9** Frozen section ของหนังศีรษะ air dry 10 นาที fix ด้วย acetone 10 นาที (A) หนังศีรษะ (B) ต่อมเหงื่อ (C) ต่อมไขมัน (F) negative control ภาพขยาย จาก E แสดง dermal papilla, ลูกศร = เซลล์ที่มี androgen receptor, หัวลูกศร = melanin pigment; bar = 100 µm



**รูปที่ 10** Frozen section ผนังอัณฑะ fix ด้วย 4% neutral buffer formalin (A) ผนังอัณฑะ (B) epidermis, (C, K) ต่อมเหงื่อ (D, L) ต่อมไขมัน, (J, K, L) negative control; ลูกศรชี้ = เซลล์ที่มี androgen receptor, หัวลูกศรชี้ = melanin pigment; bar = 100  $\mu\text{m}$



**รูปที่ 11** Frozen section ของหนังศีรษะ fix ด้วย (A- F) air dry 10 นาที acetone 10 นาที, (G-K) air dry 10 นาที acetone 10 นาที และ 4% neutral buffer formalin 10 นาที เปรียบเทียบการแสดงออกของ androgen receptor, (F, K) negative control, (A, G) ต่อมีไขมัน, (B, H) ต่อมีเชื้อ, (C-F, I-K) ต่อมาจากผม; ลูกศรชี้ = เซลล์ที่มี androgen receptor, หัวลูกศรชี้ = melanin pigment; bar = 100  $\mu$ m

## บทที่ 5

### สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการแสดงออกของ androgen receptors .ในหนังศีรษะด้วยวิธี immunohistochemistry บน paraffin section และ cryosection ยังเป็นเทคนิคที่ใช้ได้ และให้ผลที่ใกล้เคียงกับงานวิจัยที่ทำมาก่อนหน้านี้ (Blauer, Vaalasti et al. 1991; Choudhry, Hodgins et al. 1992; Kimura, Mizokami et al. 1993; Liang, Hoyer et al. 1993; Iwamura, Abrahamsson et al. 1994; Itami, Kurata et al. 1995; Thornton, Taylor et al. 2003; Jave-Suarez, Langbein et al. 2004; Kwon, Han et al. 2004) โดยมีการพบ immunolocalisation ของ androgen receptor ที่นิวเคลียสของเซลล์ในต่อมไขมัน ต่อมเหงื่อ ในหนังศีรษะ ส่วนต่อมรากผม การพบ androgen receptor ให้ผลที่ไม่แน่นอนอน โดยต่อมรากผมบางอันจะมี androgen receptor ใน dermal papilla cells อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของ antibody และตำแหน่งของหนังศีรษะและบริเวณของผิวหนังที่เก็บ นอกจากนี้จาก cryosection ของหนังศีรษะ ย้อมด้วย polyclonal antibody ต่อ androgen receptor พบว่าเซลล์ใน outer root sheath ของต่อมรากผม และ keratinocytes ที่อยู่ในชั้น epidermis ของผิวหนัง มีการแสดงออกของ androgen receptor ซึ่งจะเหมือนกับงานของ (Sawaya and Price 1997) แต่ ถ้าเป็น paraffin section ย้อมด้วย monoclonal antibody จะไม่พบ immunolocalisation muj outer root sheath, hair shaft และ hair bulb สอดคล้องกับงานของ (Choudhry, Hodgins et al. 1992; Itami, Kurata et al. 1995; Jave-Suarez, Langbein et al. 2004) ดังนั้นชนิดของ antibody ที่เลือกใช้มีผลต่อการศึกษารายการแสดงออกของ androgen receptor ซึ่ง อาจทำให้การแปลผลคลาดเคลื่อน แต่จากการใช้ RT-PCR, hormone binding assays พบทั้ง mRNA androgen receptor ปริมาณมากใน cultured dermal papilla cells ที่ได้มาจากต่อมรากผมบริเวณเครา (Randall, Thornton et al. 1992) และต่อมรากผมจากหนังศีรษะล้าน (Hibberts, Howell et al. 1998) และการพบ 5-alpha reductase activity ใน dermal papilla (Eicheler, Happle et al. 1998) ดังนั้น ต่อมรากผมจึงเป็น androgen target organ โดยที่ dermal papilla cells มี androgen receptor อยู่เป็นปริมาณมากใน ทำให้ androgen มีผลควบคุมการเจริญของต่อมรากผมที่หนัง ศีรษะโดยตรง

ต่อมรากผมที่ได้รับ inflammatory cytokines โดยเฉพาะ IL-1 $\beta$  ทางตรงโดยการฉีดเข้าผิวหนัง (Ruckert, Lindner et al. 2000) หรือ เติมนลงในน้ำเลี้ยงต่อมรากผม *in vitro* (Philpott, Sanders et al. 1996) ทำให้ต่อมรากผมหยุด การเจริญเติบโต โดยมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ dermal papilla เกิด apoptosis ขึ้นที่ follicular keratinocytes ดังนั้น IL-1 $\beta$  จัดเป็น สารที่เหนี่ยวนำให้เกิดการร่วงของผมและยับยั้งการเจริญของผม เนื่องจาก dermal papilla cell เป็นเซลล์ที่ ไวต่อ androgen จากการทดลองพบว่า IL-1 $\beta$  ทำให้การแสดงออกของ androgen receptor ใน dermal papilla ลดลง ซึ่ง อาจมีผลเหนี่ยวนำให้หยุดการเจริญของต่อมรากผมในระยะ anagen เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและเข้าสู่ระยะ catagen เร็วขึ้น (Philpott, Sanders et al. 1996) ซึ่งยังต้องทำการศึกษาถึงกลไกที่เกี่ยวข้องต่อไป

ข้อเสนอแนะ ควรจะมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้วิธี Western blot เพื่อศึกษาปริมาณ androgen receptor protein expression และ RT-PCR เพื่อศึกษารายการเปลี่ยนแปลงระดับของ androgen receptor mRNA ก่อนและหลังจาก ต่อมรากผมได้รับ IL-1 $\beta$

## บรรณานุกรม

- Ando, Y., Y. Yamaguchi, et al. (1999). "Expression of mRNA for androgen receptor, 5alpha-reductase and 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase in human dermal papilla cells." Br J Dermatol 141(5): 840-5.
- Blauer, M., A. Vaalasti, et al. (1991). "Location of androgen receptor in human skin." J Invest Dermatol 97(2): 264-8.
- Boivin, W. A., H. Jiang, et al. (2006). "Influence of interleukin-1alpha on androgen receptor expression and cytokine secretion by cultured human dermal papilla cells." Exp Dermatol 15(10): 784-93.
- Choudhry, R., M. B. Hodgins, et al. (1992). "Localization of androgen receptors in human skin by immunohistochemistry: implications for the hormonal regulation of hair growth, sebaceous glands and sweat glands." J Endocrinol 133(3): 467-75.
- Dinarello, C. A. (2000). "Proinflammatory cytokines." Chest 118(2): 503-8.
- Ebling, F. J. (1986). "Hair follicles and associated glands as androgen targets." Clin Endocrinol Metab 15(2): 319-39.
- Eicheler, W., R. Happle, et al. (1998). "5 alpha-reductase activity in the human hair follicle concentrates in the dermal papilla." Arch Dermatol Res 290(3): 126-32.
- Ellis, J. A., R. Sinclair, et al. (2002). "Androgenetic alopecia: pathogenesis and potential for therapy." Expert Rev Mol Med 4(22): 1-11.
- Hamilton, J. B. (1942). "Male hormone stimulation is prerequisite and an incident in common baldness." Ann J Anat 71: 451-481.
- Harmon, C. S. and T. D. Nevins (1993). "IL-1 alpha inhibits human hair follicle growth and hair fiber production in whole-organ cultures." Lymphokine Cytokine Res 12(4): 197-203.
- Hibberts, N. A., A. E. Howell, et al. (1998). "Balding hair follicle dermal papilla cells contain higher levels of androgen receptors than those from non-balding scalp." J Endocrinol 156(1): 59-65.
- Hoffmann, R. (2002). "Male androgenetic alopecia." Clin Exp Dermatol 27(5): 373-82.
- Hoffmann, R., E. Wenzel, et al. (1994). "Cytokine mRNA levels in Alopecia areata before and after treatment with the contact allergen diphenylcyclopropanone." J Invest Dermatol 103(4): 530-3.
- Itami, S. and S. Inui (2005). "Role of androgen in mesenchymal epithelial interactions in human hair follicle." J Investig Dermatol Symp Proc 10(3): 209-11.
- Itami, S., S. Kurata, et al. (1991). "Mechanism of action of androgen in dermal papilla cells." Ann N Y Acad Sci 642: 385-95.
- Itami, S., S. Kurata, et al. (1995). "Androgen induction of follicular epithelial cell growth is mediated via insulin-like growth factor-I from dermal papilla cells." Biochem Biophys Res Commun 212(3): 988-94.
- Itami, S., T. Sonoda, et al. (1994). "Mechanism of action of androgen in hair follicles." J Dermatol Sci 7 Suppl: S98-103.

Iwamura, M., P. A. Abrahamsson, et al. (1994). "Androgen receptor immunostaining and its tissue distribution in formalin-fixed, paraffin-embedded sections after microwave treatment." J Histochem Cytochem 42(6): 783-8.

Jahoda, C. and R. F. Oliver (1981). "The growth of vibrissa dermal papilla cells in vitro." Br J Dermatol 105: 623-627.

Jave-Suarez, L. F., L. Langbein, et al. (2004). "Androgen regulation of the human hair follicle: the type I hair keratin hHa7 is a direct target gene in trichocytes." J Invest Dermatol 122(3): 555-64.

Johoda, C. and K. Horne (1984). "Induction of hair growth by implantation of cultured dermal papilla cells." Nature 311: 560-562.

Kasuoda, K. and C. Mauch (1988). "Collagen type synthesis in human hair papilla cells in cultures." Arch Dermatol Res 280: 140-144.

Kimura, N., A. Mizokami, et al. (1993). "Immunocytochemical localization of androgen receptor with polyclonal antibody in paraffin-embedded human tissues." J Histochem Cytochem 41(5): 671-8.

Kwon, O. S., J. H. Han, et al. (2004). "Expression of androgen receptor, estrogen receptor alpha and beta in the dermal papilla of human hair follicles in vivo." J Dermatol Sci 36(3): 176-9.

Lachgar, S., M. Charveron, et al. (1999). "In vitro main pathways of steroid action in cultured hair follicle cells: vascular approach." J Investig Dermatol Symp Proc 4(3): 290-5.

Liang, T., S. Hoyer, et al. (1993). "Immunocytochemical localization of androgen receptors in human skin using monoclonal antibodies against the androgen receptor." J Invest Dermatol 100(5): 663-6.

Liao, S. S., J. Kokontis, et al. (1989). "Androgen receptors: structures, mutations, antibodies and cellular dynamics." J Steroid Biochem 34(1-6): 41-51.

Obana, N., C. Chang, et al. (1997). "Inhibition of hair growth by testosterone in the presence of dermal papilla cells from the frontal bald scalp of the postpubertal stump-tailed macaque." Endocrinology 138(1): 356-61.

Paus, R. (1998). "Principles of hair cycle control." J Dermatol 25(12): 793-802.

Philpott, M. P., D. A. Sanders, et al. (1996). "Effects of interleukins, colony-stimulating factor and tumour necrosis factor on human hair follicle growth in vitro: a possible role for interleukin-1 and tumour necrosis factor-alpha in alopecia areata." Br J Dermatol 135(6): 942-8.

Randall, V. A., N. A. Hibberts, et al. (2001). "Do androgens influence hair growth by altering the paracrine factors secreted by dermal papilla cells?" Eur J Dermatol 11(4): 315-20.

Randall, V. A., M. J. Thornton, et al. (1992). "Mechanism of androgen action in cultured dermal papilla cells derived from human hair follicles with varying responses to androgens in vivo." J Invest Dermatol 98(6 Suppl): 86S-91S.

Randall, V. A., M. J. Thornton, et al. (1994). "Androgen action in cultured dermal papilla cells from human hair follicles." Skin Pharmacol 7(1-2): 20-6.

Rebora, A. (2004). "Pathogenesis of androgenetic alopecia." J Am Acad Dermatol 50(5): 777-9.

Ruckert, R., G. Lindner, et al. (2000). "High-dose proinflammatory cytokines induce apoptosis of hair bulb keratinocytes in vivo." Br J Dermatol **143**(5): 1036-9.

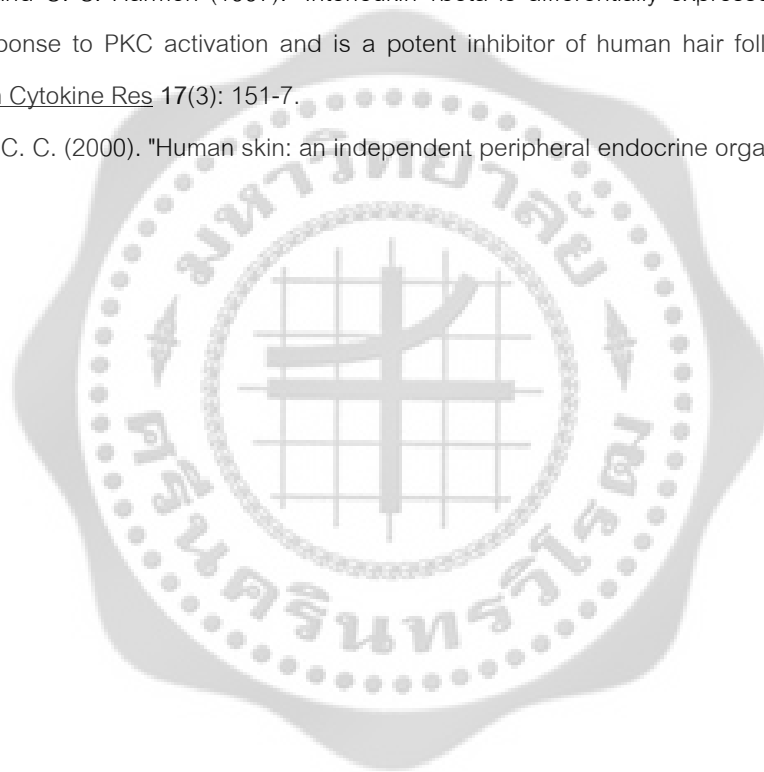
Sawaya, M. E. and V. H. Price (1997). "Different levels of 5alpha-reductase type I and II, aromatase, and androgen receptor in hair follicles of women and men with androgenetic alopecia." J Invest Dermatol **109**(3): 296-300.

Thornton, M. J., A. G. Messenger, et al. (1991). "Effect of androgens on the growth of cultured human dermal papilla cells derived from beard and scalp hair follicles." J Invest Dermatol **97**(2): 345-8.

Thornton, M. J., A. H. Taylor, et al. (2003). "The distribution of estrogen receptor beta is distinct to that of estrogen receptor alpha and the androgen receptor in human skin and the pilosebaceous unit." J Investig Dermatol Symp Proc **8**(1): 100-3.

Xiong, Y. and C. S. Harmon (1997). "Interleukin-1beta is differentially expressed by human dermal papilla cells in response to PKC activation and is a potent inhibitor of human hair follicle growth in organ culture." J Interferon Cytokine Res **17**(3): 151-7.

Zouboulis, C. C. (2000). "Human skin: an independent peripheral endocrine organ." Horm Res **54**(5-6): 230-42.





## ประวัติย่อผู้วิจัย

### 1. นายอุทัย ตันกิตติวัฒน์ (Mr. Uthai Tankittawat)

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สุขุมวิท 23

เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110 โทรศัพท์ 02-2602234-5 ต่อ 4506

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. การเก็บรักษาตัวอย่างอวัยวะโดยวิธีกำซาบด้วย สารพลาสติก ตามวิธี S-10 standard Technique โดยใช้เครื่องมือ Plastination unit ที่ผลิตขึ้นเอง

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

: สถานภาพเป็นหัวหน้าโครงการในงานวิจัยที่พิมพ์ เผยแพร่ ดังนี้

1. อุทัย ตันกิตติวัฒน์, เอมอร เจริญสรรพพืช, การเก็บรักษาตัวอย่างอวัยวะโดยวิธีกำซาบด้วยสาร พลาสติก ตามวิธี S-10 standard technique โดยใช้เครื่องมือ Plastination unit ที่ผลิตขึ้นเอง เวชสารคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรี นครินทรวิโรฒ 1998;2:73-81.

: สถานภาพเป็นผู้วิจัยในงานวิจัยเรื่อง การทำ Sheet plastination ที่ผลิตขึ้นเอง และการศึกษาหาเรซินที่เหมาะสมมาใช้แทนเรซิน E12 ตามวิธีของ E12 เทคนิค โดยใช้เครื่องมือ Plastination unit โดยได้รับเงินทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2544

: สถานภาพเป็นผู้วิจัย ในงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ ดังนี้

1. เอมอร เจริญสรรพพืช, อุทัย ตันกิตติวัฒน์, หลักการเก็บรักษาเนื้อเยื่อทางชีวภาพ โดยวิธี กำซาบสาร พลาสติก เวชสารคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 1997;2:95-100.

2. เอมอร เจริญสรรพพืช, อุทัย ตันกิตติวัฒน์, การทำ sheet plastination สำหรับแผ่นสมอง โดยเครื่องมือ plastination unit ที่ผลิตขึ้นเอง. เวชสารคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 1999:1:19-24.

3. เอมอร เจริญสรรพพืช, อุทัย ตันกิตติวัฒน์, การศึกษาการกำซาบแผ่นลำตัวมนุษย์ด้วย สาร พลาสติกโดยวิธี โพลีเมอร์ไรซิงอิมัลชัน เวช-สารคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 2000; 3:118-24.

### 2. วนิดา ไตรพานิชย์กุล (Dr.Wanida Tripanichkul)

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สุขุมวิท 23

เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110 โทรศัพท์ 02-2602234-5 ต่อ 4505

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

หัวหน้าโครงการวิจัย

: ชื่อโครงการวิจัย Spermatogenesis and spermatogenic cells in the adult male giant tiger prawn,

*Penaeus monodon*, Fabricius light microscope and ultrastructural studies.

ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2539

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

: สถานภาพเป็นผู้วิจัย ในงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ ดังนี้

1. Tankittiwat U, Tripanichkul W. Branches of median nerve in the arm. Med J Srinakharinwirot. 1996; 3: 1-3.
2. Tripanichkul W, Singhaniyom W, Vuthiphanchai W, Juengudomcharoen S. A study on spermatogenesis of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon*, Fabricius (Decapoda). Kasetsart J. (Nat Sci) 1997; 31: 192-198.
3. Parish CL, Finkelstein DI, Tripanichkul W, Satoskar A, Drago J, Horne MK. Role of type I IL-1 receptor, IL-6 and glia in dopaminergic terminal sprouting following 6-OHDA lesion or dopaminergic receptor blockade. J Neurosci 2002.
4. Tripanichkul W, Stanic D, Drago J, Finkelstein DI, Horne MK. The D<sub>2</sub> dopamine receptor has different actions in regulating sprouting associated with repair and remodelling. J Neurosci. June 2002.
5. Stanic D, Tripanichkul W, Finkelstein DI, Drago J, Horne MK Time course change of striatal dopaminergic terminals and glia following 6-OHDA lesion.

3. อรพิน เกิดประเสริฐ (Dr. Orapin Gerdprasert)

ตำแหน่งทางวิชาการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8

หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อกับได้

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สุขุมวิท 23

เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110

โทรศัพท์ 02-2602234-5 ต่อ 4505 โทรสาร 02-2601532

สถานภาพเป็นผู้วิจัย ในงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ ดังนี้

1. Gerdprasert, O., O'bryan, M.K., Muir, J.A., Caldwell, A.M., Schlatt, S., De Kretser, D.M. and Hedger, M.P. (2002) The response of testicular leukocytes to lipopolysaccharide-induced inflammation: further evidence for heterogeneity of the testicular macrophage population. Cell Tissue Res 308(2):277-85.
2. Gerdprasert, O., O'bryan, M.K., Nikolic-Paterson, D.J., Sebire, K., De Kretser, D.M. and Hedger, M.P. (2002) Expression of monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage colony-stimulating factor in normal and inflamed rat testis. Mol Hum Reprod 8(6):518-24.
3. O'bryan, M.K., Schlatt, S., Gerdprasert, O., Phillips, D.J., De Kretser, D.M. and Hedger, M.P. (2000) Inducible nitric oxide synthase in the rat testis: evidence for potential roles in both normal function and inflammation-mediated infertility. Biol Reprod 63(5):1285-93.
4. O'bryan, M.K., Sebire, K.L., Gerdprasert, O., Hedger, M.P., Hearn, M.T. and De Kretser, D.M. (2000) Cloning and regulation of the rat activin betaE subunit. J Mol Endocrinol 24(3):409-18.

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

การศึกษากายวิภาคศาสตร์ของยีน CD14 และ Toll-like receptor 4 ใน อัณฑะปกติและอัณฑะที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดการติดเชื้อ จากกระแสโลหิตด้วย lipopolysaccharide ของหนูแรท

ได้รับการสนับสนุนจากทบวงมหาวิทยาลัยและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยปี 2546

4. นายพูลพล ผดุงชัยโชติ (Dr.Poolpol padunchaichot)

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8  
หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์  
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สุขุมวิท 23  
เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110  
โทรศัพท์ 02-2602234-5 ต่อ 4506

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ  
หัวหน้าโครงการวิจัย

: ชื่อโครงการวิจัย ผลของสารละลายไมตราจินีนต่อพฤติกรรมและการเคลื่อนไหวของหนูทดลอง (mice) ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ของ มศว. ปี 2536

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

: สถานภาพเป็นผู้วิจัย ในงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ ดังนี้

1. Padungchaichot P, Wong JY, Natoli AL, Massalas JS, Finkelstein DI, Lawrence AL, Drago J. Early direct and transneuronal effects in mice with targeted expression of a toxin gene to D1 dopamine receptor neurons. *Neuroscience*. 2000; 95(4): 1025-33.
2. Wong JY, Padungchaichot P, Massalas JS, Drago J. Late direct and transneuronal effects in mice with targeted expression of a toxin gene to D1 dopamine receptor neurons. *Neuroscience* 2000; 95(4): 1035-41.
3. Drago J, Padungchaichot P, Wong JY, Lawrence AJ, McManus JF, Sumarsono SH, Natoli AL, Lakso M, Wreford N, Westphal H, Kola I, Finkelstein DI. Targeted expression of a toxin gene to D1 dopamine receptor neurons by *Cre*-mediated site-specific recombination. *J Neurosci*. 1998 Dec 1; 18(23): 9845-57.
4. Drago J, Padungchaichot P, Accili D, Fuchs S. Dopamine receptors and dopamine transporter in brain function and addictive behaviors: insights from targeted mouse mutants. *Dev Neurosci* 1998; 20(2-3): 188-203. Review.
5. Padungchaichot P, Stanic D, Finkelstein DI, Drago J. Anatomical changes in the effect pathways of the striatum of mutant mice. [In preparation].

5. เอมอร เจริญสรรพพีช (Mrs. Em-orn Jareonsuppaperch)

ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8  
หน่วยงานที่อยู่ติดต่อได้ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์  
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สุขุมวิท 23  
เขตวัฒนา กรุงเทพฯ 10110 โทรศัพท์ 02-2602234-5 ต่อ 4511

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ  
หัวหน้าโครงการวิจัย

1. หลักการเก็บรักษาเนื้อเยื่อทางชีวภาพ โดยวิธีกำซาบ สารพลาสติก
2. การทำ sheet plastination สำหรับแผ่นสมอง โดยเครื่องมือ plastination unit ที่ผลิตขึ้นเอง
3. การศึกษาการกำซาบแผ่นลำตัวมนุษย์ด้วยสารพลาสติกโดยวิธีโพลีเมอร์ไรซิงอิมัลชัน

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

: สถานภาพเป็นหัวหน้าโครงการในงานวิจัยเรื่อง การทำ Sheet plastination ที่ผลิตขึ้นเอง และการศึกษาหาเรซินที่เหมาะสมมาใช้แทนเรซิน E12 ตามวิธีของ E12 เทคนิค โดยเครื่องมือ Plastination unit โดยได้รับเงินทุนอุดหนุนจากงบประมาณแผ่นดิน ปี 2544

: สถานภาพเป็นหัวหน้าโครงการในงานวิจัยที่พิมพ์ เผยแพร่ ดังนี้

1. เอมอร เจริญสรรพพืช, อุทัย ตันกิตติวัฒน์, หลักการเก็บรักษาเนื้อเยื่อทางชีวภาพ โดยวิธีกำซาบ สารพลาสติก เวชสารคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 1997;2:95-100.

2. เอมอร เจริญสรรพพืช, อุทัย ตันกิตติวัฒน์, การทำ sheet plastination สำหรับแผ่นสมองโดยเครื่องมือ plastination unit ที่ผลิตขึ้นเอง เวชสารคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 1999:1:19-24.

3. เอมอร เจริญสรรพพืช, อุทัย ตันกิตติวัฒน์, การศึกษาการกำซาบ แผ่นลำตัวมนุษย์ด้วยสาร พลาสติกโดยวิธีโพลีเมอร์ไรซิงอิมัลชัน เวชสารคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 2000; 3:118-124.

: สถานภาพเป็นผู้วิจัยในงานวิจัยที่พิมพ์เผยแพร่ ดังนี้

1. อุทัย ตันกิตติวัฒน์, เอมอร เจริญสรรพพืช การเก็บรักษาตัวอย่างอวัยวะโดยวิธีกำซาบด้วยสาร พลาสติกตามวิธี S-10 standard Technique โดยใช้เครื่องมือ Plastination unit ที่ผลิตขึ้นเอง. เวชสาร คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 1998;2:73-80.

