

臨床導向策略之 再生醫學研究



方旭偉教授
國立台北科技大學
生醫材料工程跨領域研發中心

前言

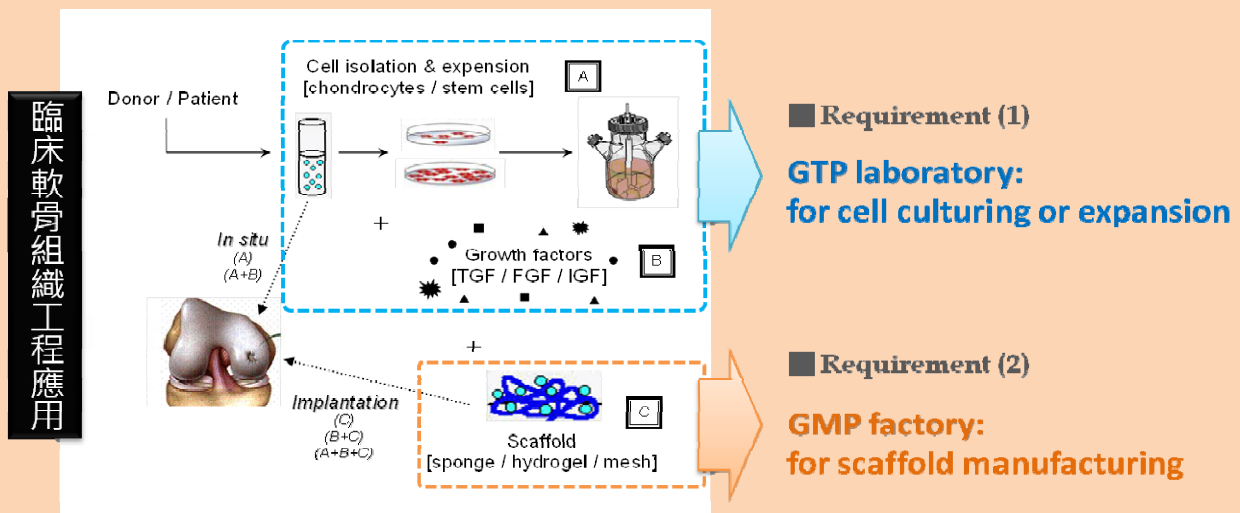
再生醫學帶給人類疾病治療無限希望。「生醫材料工程跨領域研發中心」是以臨床醫學需求引導,開發醫材整合商品化特色之醫學工程研發團隊,並以分子技術為研究基礎之特色領域研究,致力「再生醫學複合醫材之開發」。結合跨越生物科技、材料科學、機械工程、臨床醫學、等領域的研究人員,整合動物試驗及臨床醫學等技術,願景落實生醫材料工程商品化,並將研發成果轉化實際應用於臨床治療上。近年來在執行相關材料研究、醫療器械開發、生技產業政策制定皆已有相當的成果與能力,並於『軟骨組織修復』及『脂肪幹細胞於軟組織修復』兩大研究成果中,已具有從基礎研究執行至產業技術商品化與技術移轉之完整能力之雛形。

研究成果

• 一次性手術為導向之軟骨再生修復技術

關節軟骨可能會因為運動受損，或是車禍等意外事件造成機械性的傷害，使關節軟骨破損掉落；也可能因痛風、關節炎等疾病造成對關節軟骨的侵蝕。然而關節軟骨損傷後，自行修復的能力非常有限。常常會因為漸漸地磨損，侵蝕到下方的骨頭而出現疼痛、腫脹等症狀，甚至產生退化性關節炎疾病，限制了病人的活動。

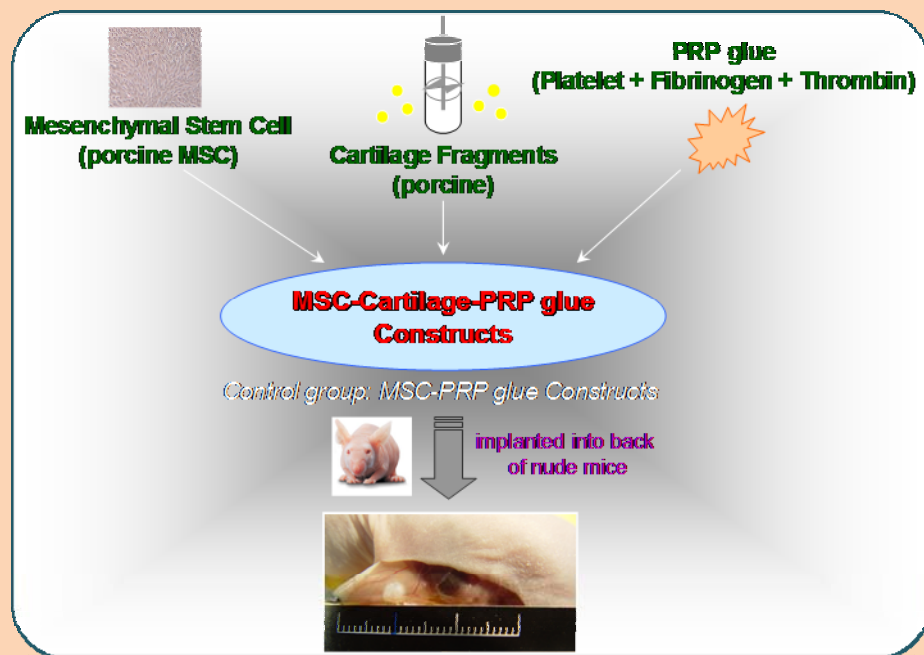
隨著科學進步，二十世紀末的醫學趨勢，從“替換”進展到“再生”的理念，軟骨組織工程的崛起與發展，提供了一個新的治療方法，為人類追求人工器官與人體組織再生帶來希望的曙光。在臨床軟骨組織工程應用上，生物性成分的醫材與支架需要符合GMP工廠規範與高風險審查外，若牽涉到細胞培養治療則還需要符合GTP認證實驗室的規範，造成此類複合性醫材上市與審查成為一個高難度的挑戰。因此，如何將實驗室組織工程研發成果成功導入臨床商品化，並配合手術移植的操作過程，一直困擾與考驗著學術界、產業界以及醫學界。



圖一、臨床軟骨組織工程應用之門檻

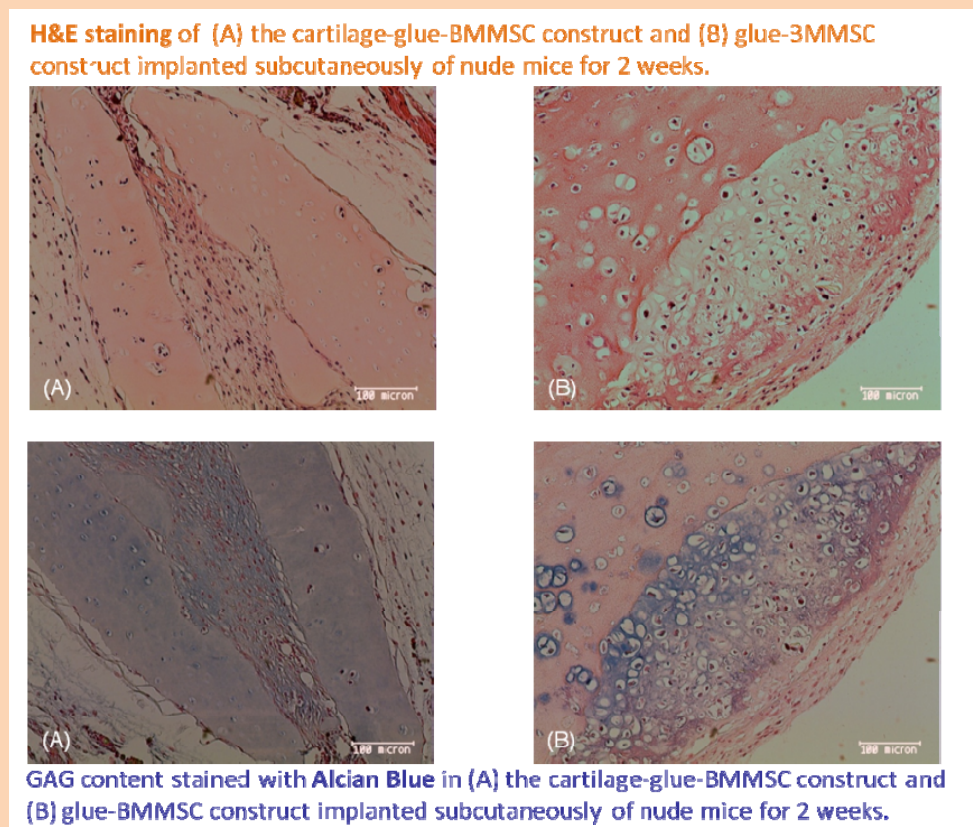
我們希望研發成果能降低相關技術實際運用於臨床之困難度，試圖發展一種新穎的方法，以骨髓間葉幹細胞及血小板凝膠進行不需製備支架與體外軟骨細胞培養的方法，以應用於軟骨組織修復。此方法不需要GTP實驗室進行體外細胞培養，也不需要GMP工廠額外製備支架，能於一次性手術中完成。

實驗執行我們將屠宰廠獲得的新鮮豬關節軟骨切片剪碎後，配合豬隻骨髓、凝血酶製備產生器，抽取全血進行分離得到的間葉幹細胞以及血液衍生物「血小板纖維蛋白膠」，製備成軟骨碎片-間葉幹細胞-血小板纖維膠之混合物，植入裸鼠皮下數週(圖二)。



圖二、實驗架構

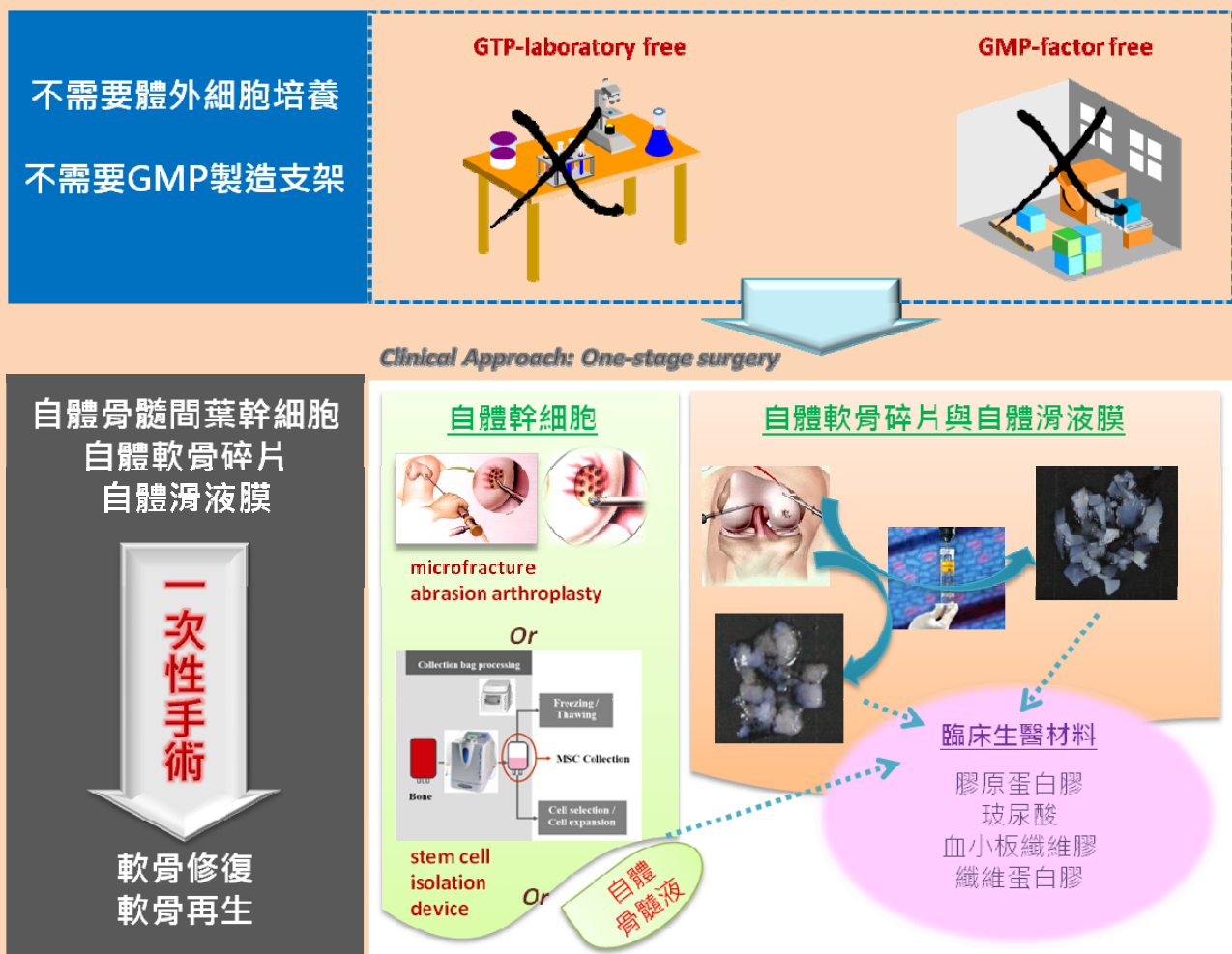
組織切片結果顯示此新穎的培養方法有助於幹細胞走向玻璃軟骨之類軟骨細胞型態，分泌大量的葡萄糖聚醣，培養出新的軟骨組織(圖三)。



圖三、組織切片圖

將研究成果轉化於臨床實施方法(圖四)則希望透過擷取病人完整的軟骨組織，再將其剪切成小碎片，同時，由病人身上抽出之骨髓液，以全自動細胞分離機分離骨髓間葉幹細胞，將軟骨碎片、間葉幹細胞和血小板凝膠一起混合後再植回受損部位，而血小板凝膠可抽取病人本身之血液成份，由含血小板的血液與含鈣凝血劑結合而得之。此一新穎技術也榮獲**2008**年國家新創獎之肯定。

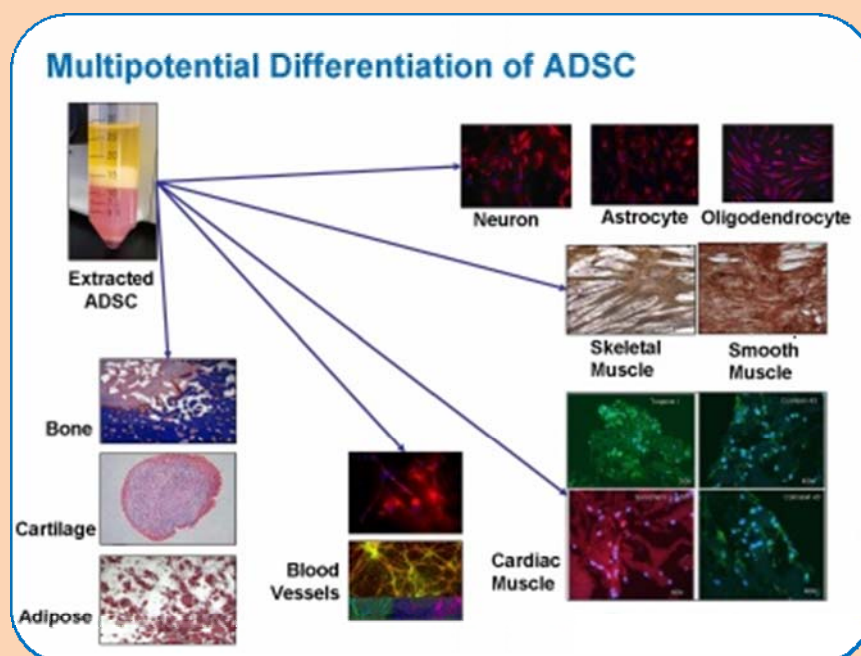
本團隊克服關鍵困難而研發之不需體外細胞培養的軟骨組織工程技術，對於人類軟骨受損之重要健康問題將有相當大之發展潛力與臨床應用價值，實現關節軟骨組織再生的夢想。



圖四、軟骨修復再生之臨床實施方法

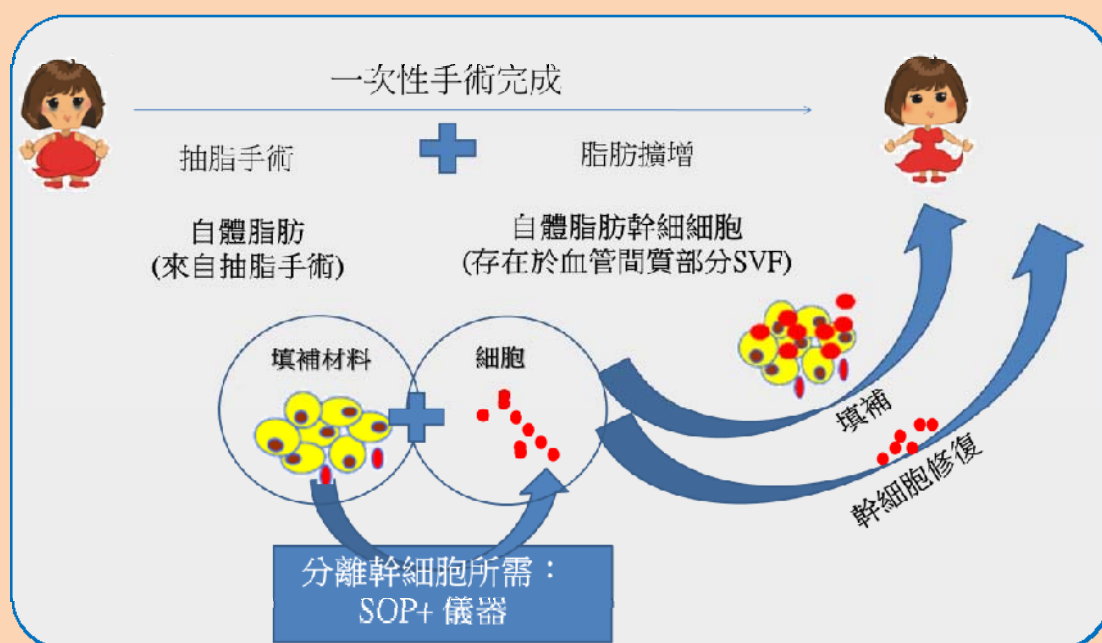
2.開發快速分離脂肪幹細胞程序於臨床應用

脂肪組織內幹細胞的量極多，取得相較於骨髓容易，無胚胎幹細胞倫理道德疑慮，且具有分化成脂肪細胞，成骨細胞，軟骨，心肌和神經等不同種類的成熟細胞能力(圖一)，現在被視為一種很有前途的成體幹細胞來源，有望成為一個有價值的工具，廣泛的應用於細胞治療方法。



圖一、脂肪幹細胞分化成多種細胞能力

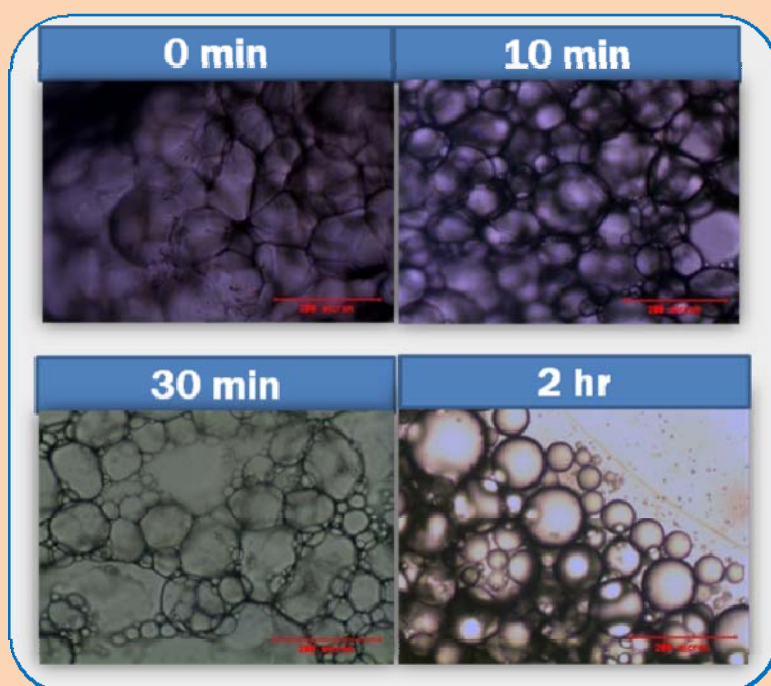
脂肪幹細胞臨床上現況應用最多為一次手術中完成抽脂填補(如圖二、一次手術概念)。抽脂手術讓病患做體型雕塑，同時利用抽脂手術後的脂肪組織提取幹細胞結合自體作為填補材料用於乳房重建、豐胸、臉部微填補之用，亦或利用脂肪幹細胞做細胞修復。



圖二、脂肪幹細胞應用於一次性手術概念

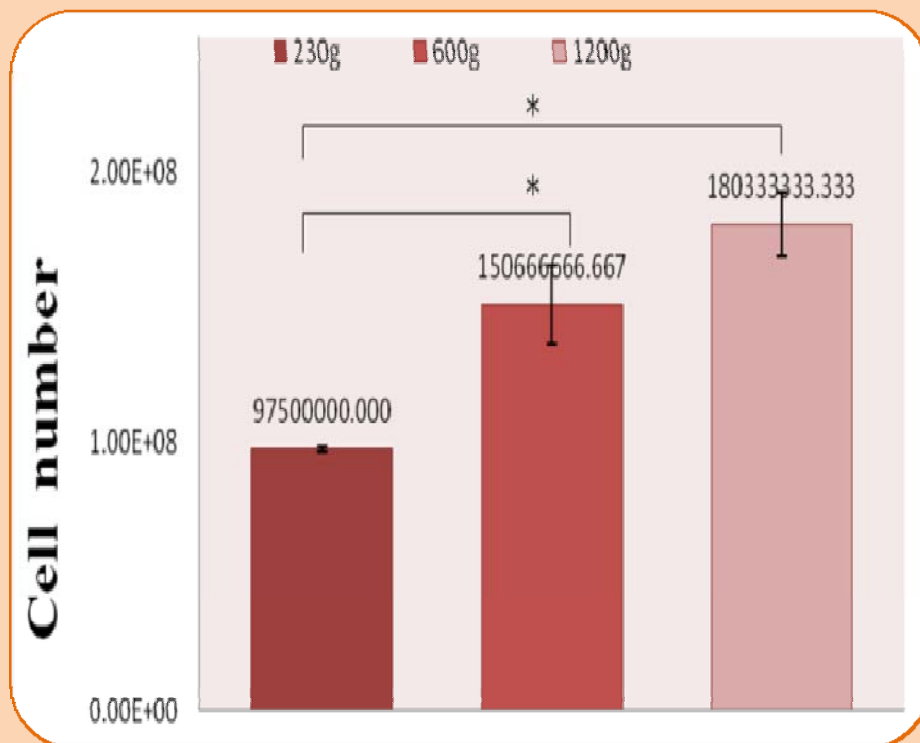
現行應用於臨床上幹細胞分離技術來自於一般研究用的分離方式。研究用幹細胞分離方式步驟繁瑣，時程約2~3小時，病人與醫護人員需在此時間等待幹細胞分離完成後方能進行下一個手術流程，無形中增加醫事成本，病人醫療品質也有所影響。過多及繁瑣提取步驟對幹細胞質量數量活性也會隨之下降。

因此本團隊試圖建立一套符合臨床應用之需的快速分離脂肪間質幹細胞方法。藉由改變分離流程中不同參數，與影響分離效果因子，簡化分離步驟且縮短時程於1小時內能完成，並能獲得高品質之細胞。由膠原蛋白酶分別作用不同時間:2小時、30分鐘、10分鐘、0分鐘，其脂肪組分解實驗觀察結果發現，分解30分鐘得到的分解效果較其它條件好(圖三)。



圖三、顯微鏡下觀察膠原蛋白酶作用時間之組織分解情形

而在各不同離心力230g、600g、1200g對獲得脂肪間質細胞群數目之影響結果發現，隨著離心力的上升，獲得之細胞數目也隨之上升。1200g離心力作用獲得較多的細胞數。(圖四)。因此我們選用酵素分解時間為30分鐘搭配離心力1200g作為分離程序之主要參數。



圖四、不同離心力程序分離後之細胞數目

開發之「快速分離脂肪間質細胞群之方法」，過程於1小時內處理完成，符合臨床之需。另外此技術已技轉移給醫材廠商，透過標準流程建立，與數據資料庫整合，提供醫療器材研發平台測試依據，協助建構高階醫材研發之關鍵流程，延伸開發之相關醫材進入試量產階段，加速其商品化之時程。未來整合技術與醫療器械，期望能縮短病人手術流程，提高醫療品質。



2012.11.05 方旭偉教授於台大醫學院講