

行政院及所屬各機關出國報告

(出國類別：研習)

『人類胚幹細胞株之培養及應用之實驗研習』

服務機關：台北榮民總醫院

出國人職稱：研究員

姓名：朱廣邦

出國地區：澳洲·墨爾本市

出國期間：91年6月20日至28日

報告日期91年7月22日

摘 要

人類胚幹細胞（HES）的研究已在多國如火如荼的展開，澳洲 ESI 已與本院簽約，願贈我兩株獲准註冊於美國 NIH 的 HES 細胞株，在未引進此等細胞株前，特赴 ESI 實驗室，進行九天的參訪研習，實際操作及現場觀摩培養 HES 可能產生的種種狀況。行程結束帶回詳細 HES 培養手冊及照片，現已在積極安排通關手續，希望能在 7-8 月間順利將兩株 HES 細胞株引進本院，展開研究。

人類胚幹細胞 (human embryonic stem cell)

簡介

胚幹細胞是源自於哺乳類胚胎囊胚時期內細胞層 (blastocyst inner cell mass) 之細胞。不同於體細胞，胚幹細胞的主要特性是：(1) 可在原始未分化狀態下無限增生，而又同時保有分化的潛能。(2) 在適當的環境條件下，其分化潛能可被激發進而走向外胚層、中胚層或內胚層細胞的分化路線。

人類幹細胞生物學的新時代開始於 1998 年。有科學家從人類囊胚期細胞或胎兒組織中建立出具有高度分化潛力的人類胚幹細胞及人類胚胎生殖細胞。James Thomson 於 1998 年與他的同事們發表了建立及維持人類胚幹細胞的方法，他們將人類體外受精之囊胚期細胞中的內胚層取出，加以培養並選擇，而得到胚幹細胞株，同時，另一支由 (大學) John Gearhart 所領導之研究團隊也建立了人類胚胎生殖細胞。此細胞是從流產 5-9 週胚胎中之 gonadal ridge 和 mesenchyme 取得的 primordial germ cells 而來。自此之後，有許多研究團隊對這些細胞的分子生物性質加以研究探討，同時也改進培養此等細胞株之方法。除此之外，多研究生開始嘗試直接導向分化這些具有高度分化潛力的胚幹細胞，並且鑑別這些分化後特殊細胞之功能狀況。然而胚幹細胞的分化作用需經過一連串多種細

胞地活化之反應，不同組群的基因在不同時期的分化作用可預期被活化或關閉。目前世界各地有許多的科學家正致力於尋找並鑑定有哪些基因、蛋白質或細胞擁有直接或間接調控胚幹細胞之分化的功能。

雖然現今胚幹細胞的研究仍處於萌芽階段，但這些研究對於往後生命科學的發展，及人體器官治療將提供重要的新方向，如人類早期胚胎發育學研究、細胞移植策略，和因受傷或疾病而失去重要功能之人體器官的恢復等。

ES Cell International 簡介

ES Cell International (ESI) 以智慧及解決問題的能力在人類胚幹細胞領域及導向分化，中掌控著重要的技術。ES Cell International 擁有 6 株已登記於美國 NIH 國立幹細胞註冊協會之人類胚幹細胞。

ES Cell International 成立於 2000 年 7 月，擁有由新加坡生命科學投資集團(Life Science Investments)及澳洲胚幹細胞公司(ES Cell Australia Pty Ltd)提供的 1 千萬元美金。ESI 正利用這筆資金發展由澳洲蒙納士大學生殖發育研究中心(Monash Institute of Reproduction and Development)、新加坡國立大學(The National University of Singapore)、以色列哈達薩醫學組織(Hadassah Medical Organisation)、及荷蘭修瑞徐特研究室(Hubrecht Laboratory)所建立之與人類胚幹細胞相關之智慧財產。而這四個國際組織研究成果的智慧財產權將與 ESI 分享。

ESI 的主要經營策略是將實驗技術轉換成與再生醫學相關之產品，研究著眼於檢定調控人類胚幹細胞之自體再生及導向分化之刺激因子，並計劃將檢定出來之基因及蛋白質，研發成利於培養可用來做移植之已分化細胞的成長激素或試劑，成為中短期的利潤及營收。

ESI 目前將資源專注於神經 心臟 血液及胰臟等疾

病的醫療領域，但會將新發現，如藥品、基因治療和診斷等成果與合作伙伴分享，並預計在 2005/6 年將有第一個研究成果應用於臨床實驗上。

ESI 之研究規畫

資金來源：短期而言，ESI 計畫銷售試劑（如單株抗體 細胞株 和生長因子），中期則銷售已分化的細胞（如心臟 腎臟 肝臟等以做毒性測試）及其所獲之專利金。長期營運策略則銷售治療性產品及其所獲之專利金。

研究發展：短期計畫：從基因、蛋白質及細胞層面鑑別人類胚幹細胞之分化及維護。中期計畫：發展人類胚幹細胞及其分化細胞的量產技術，和發展人類胚幹細胞的標準程序。長期計畫：針對人類退化性疾病發展出治療性試劑，進而發展出以細胞或複合藥學性治療方式，以達成治療人類疾病之目的。

ESI 在人類胚幹細胞研究之重大貢獻

1. ESI 是全世界第一個完成在試管內分化人類胚幹細胞成神經細胞的團隊。
2. 成功成立跨國合作團隊，國家包括澳洲、以色列、新加坡及荷蘭。
3. 於 2000 年 4 月及 2001 年 12 月於國際知名期刊 Nature Biotechnology 陸續發表主要研究成果：人類胚幹細胞的建立與其分化成三種神經細胞，及其在動物模式下的功能評估。上述成果皆已獲國際專利。
4. 在人類胚幹細胞的研究領域中發展出一個重要的專利投資組合。

研習過程

地點：澳洲墨爾本市 Baker Medical Research Institute 之 ES Cell International (ESI) 研究室

時間：91 年 6 月 20 日至 28 日

研習方式：實際實驗操作及技術細節討論

攜回資料：幹細胞培養之詳盡過程，圖片及若干重要操作工具之樣本

八天的研習在墨爾本知名的 Alfred General Hospital 內之 Baker Research Institute 進行，由 ESI 研究機構的研究人員負責執行，本院除了本人外，另派有何橈通主任研究室之博士後研究人員阮祺昌博士同行。第一天到的實驗室才知道這是一對一的研習，ESI 派出兩位具有實際經驗的研究人員，負責全程指導我們，並給我們提供一切協助。研究並非免費，每人學費澳幣\$2,500，相當於約台幣 NT\$50,000。八天的作息為早上 9 點開始，中午休息，下午 5 點左右結束，除了在實驗室實際操作整個胚幹細胞之培養過程外，還有不少討論及交換意見的時間與機會。八天的訪問，真正建立了雙方溝通的管道，對日後本院胚幹細胞的研究必有很大的幫助，本人返國後，也正積極安排接受 ESI 在合約條例下所增予的兩株人類胚

幹細胞株 HES3 及 HES4，這兩個細胞株已獲美國 NIH 認證及註冊。

八天詳細研習內容如下：

6/20 (四): 1. 解凍 MEF 細胞至 T75 培養皿。

6/21 (五): 1. 更換 HES 細胞轉移皿的培養液。

2. 觀察細胞之轉移 (day 1-2)。

3. MEF 細胞從 T75 培養皿分養至新的細胞轉移皿上。

6/24 (一): 1. 更換 HES 轉移皿內的培養液。

2. 觀察 HES 細胞之轉移 (day 4-5)。

3. 將 MEF 細胞分盤以準備明天之新 HES 細胞之轉移。

6/25 (二): 1. 更換 HES 轉移皿內的培養液。

2. 預先平衡 MEF 培養皿中的 HES 培養液。

3. 觀察轉移後第 5-6 天的 HES。

4. 準備相關之培養液。

6/26 (三): 1. 更換 HES 的培養液。

2. 預先平衡 MEF 培養皿中的 HES 培養液。

3. 觀察第七天的 HES 細胞，並選擇適用於進一步分盤轉移者及冷凍收藏者。

4. 切割刀具之準備。

5. HES 細胞之轉移

6. HES 細胞之冷凍技術。

6/27 (四): 1. 更換 HES 的培養液。

2. 觀察轉移後第 1 天的 HES 細胞。
3. 進一步練習細胞轉移及切割。

6/28 (五): 1. 收拾實驗室。

2. 一般討論及交換意見。
3. 研習結束。

建議事項

- (1) 人類胚幹細胞的研究尚展初期，細胞株的建立不上三年，研究人員對其特性尚在積極瞭解中，在短期內難以達成利用胚幹細胞進行治療。
- (2) 取得 ESI 細胞株後，我實驗室應積極且切實先建立起一套穩定及可大量培養此等細胞株的標準流程。
- (3) 胚幹細胞之研究之最終目的為疾病的治療，朝此方向邁進之時，應該先設定可及之中短程目標，如：深入瞭解人類胚幹細胞株之分子及細胞生物學，並探索生長激素等因子對細胞培養及分化之需求，進而了解胚幹細胞分化的機制。
- (4) 幹細胞研究非一朝一夕即有所成，應先設定為一長程研究方向，並給予研究人員充分的支持及鼓勵，也該有計劃地培育研發胚幹胞之固定技術人員。
- (5) 應可嘗試跨出本院，在台灣擴大人類胚幹細胞的團隊合作研究。