

行政院及所屬各機關出國報告

(出國類別：研究)

國立成功大學醫學院附設醫院

醫師出國進修報告

整形外科相關之組織生物工程研究

服務機關：國立成功大學附設醫院

出國人 職稱：主治醫師

姓名：謝式洲

出國地區：美國麻塞諸塞州波士頓市

出國期間：90年12月21日至92年2月28日

報告日期：92年5月

行政院及所屬各機關出國報告提要

出國報告名稱：

整形外科相關之組織生物工程研究 頁數 9 含附件：是 否

出國計畫主辦機關/聯絡人/電話

出國人員姓名/服務機關/單位/職稱/電話

謝式洲/成大醫院/外科部/主治醫師/ (06) 2353535 ext.5233

出國類別：1.考察 2.進修 3.研究 4.實習 5.其他

出國期間：90年12月21日至92年2月28日 **出國地區：**美國波士頓

報告日期：92年5月

分類號/目

關鍵詞：生物組織工程 (Tissue Engineering)

內容摘要：(二百至三百字)

各種組織的重建修補，包括皮膚、骨頭、神經、血管、肌肉、肌腱...等，是整形外科醫師常遭遇的問題。而各種器官的移植，如腎臟移植、肺臟移植、心臟移植、肝臟移植，以至1970年代至今30年蓬勃發展的各種顯微組織移植，不論器官或組織的取得，都有其個別的倫理、生理或病理功能上的考量及限制，因此，如何"Creation of new tissue or organ"來恢復維持，或增進組織或器官的功能，是一新的思考方向和科學的夢想，再生醫學 (Regenerative Medicine) 於焉誕生。而再生醫學的主要觀念架構為細胞移植 (cell transplantation) 和組織工程學 (tissue engineering)，哈佛大學麻省總醫院 (Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School) Dr. Joseph P. Vacanti 的實驗室 (Laboratory for Tissue Engineering and Organ Fabrication) 是組織生物工程的發源地，許多組織如骨頭、軟骨、肌腱、心瓣膜、小腸、膀胱.....等27種組織的組織生物工程，甚至人工器官如肝臟、肺臟、腎臟..等器官生物工程，也都從這個實驗室發展出來。本人此次進修在實驗室

之主要主題為「耳朵軟骨之組織工程」，並吸收許多其他不同類型組織的生物組織工程概念。

本文電子檔已上傳至出國報告資訊網 (<http://www.report.gsn.gov.tw>)

一. 目的

組織或器官的移植，在手術技術上，已有很高的成功率，但仍存在許多問題。如異體移植的排斥問題，捐贈組織或器官的來源不足，自體組織移植的供區問題...等等。每年有成千上萬的病患因器官衰竭或組織缺損需要行器官移植或組織移植。由於對於細胞及基因工程的了解，各種 Biomaterials 的進步，加上病患的迫切需要，於是有組織工程 (tissue engineering) 領域的發展。什麼是生物組織工程？廣義的說，組織工程學是在實驗室操控分子、細胞、組織或器官的生長來重建缺損的組織或支持器官的功能。

因此，生物組織工程大致可略分為兩個領域，結構性生物組織工程 (structural tissue engineering) 及功能性生物組織工程 (functional tissue engineering)，結構性生物組織工程則如骨頭、軟骨、神經、肌腱、血管.....等之生物組織工程，功能性生物組織工程如微血管網路組織工程、腎器官工程、肺器官工程及肝器官工程。不同類型的組織或器官，其參與或可操控的細胞有所不同，當然，這些細胞與 Biomaterials 的複雜互動也大不相同。因此，tissue engineering 的領域廣闊複雜，本人此次進修將實驗主題集中在「軟骨之生物組織工程」。

二. 過程：

本人進修的組織及器官工程實驗室 (Laboratory for Tissue Engineering and Organ Fabrication) 是位於美國波士頓 (Boston) 的麻省總醫院 (Massachusetts General Hospital)。麻省總醫院成立於 1811 年，近二百年的歷史，它也是哈佛大學的第一個附設醫院 (affiliated hospital)。哈佛大學成立於 1636 年，其有四個主要的附設醫院 (醫學中心)，包括 Massachusetts General Hospital, Brigham and Women's Hospital, Children's Hospital 及 Dana Farber Cancer Institute, 四個醫學中心都是斐名國際的醫學重鎮，而且在每年的 Best Hospitals in US, 四個哈佛的附設醫院均是名列前茅。試想在台灣一大學僅有一附設醫院，而哈佛大學有四大醫學中心，各個獨立，其服務、教學之品質及研究之能量，均屬全美之冠。後來因其各方面之業務量過大，於是行政業務，經過哈佛大學統籌，於 1994 年交予於 Partners Health Care 的經紀公司處理，讓各個醫學中心之間的醫師、病患的交流更為通暢。舉例來說，每 30 分鐘有一班交通車同時在 Massachusetts General Hospital 和 Longwood Medical Center (註：Brigham & Woman's Hospital, Children's Hospital 和 Dana Farber Cancer Institute 均位於 Longwood Medical Area) 對開，有任何的學術活動，或病患的互相轉送，均可流暢無阻，醫師也可隨時選擇你有興趣的演講或活動參與，在哈佛大學，常有諾貝爾獎級的演講，聆聽大師級的演講，不但是大享受，對提昇自己的思考模式，也有相當大的助益。

麻省總醫院在醫學史上有著非常重要的地位。它創造出許多醫學上的第一，最膾炙人口的當然是早在 1846 年，全世界第一個乙醚 (ether) 無痛麻醉就是在麻省總醫院的圓頂上完成，現稱為 Ether Dome，許多重要的學術活動，現仍會在這 160 年前的場景舉行。又如全世界第一例斷臂再接植，也於 1962 年在 MGH 完成。其他由麻省總醫院發展出許多改變人類醫學史的

貢獻，不勝枚舉，可參考 <http://www.mgh.harvard.edu/about/milestones.htm>。

本人進修的實驗室，是 tissue engineering 領域的發源地，許多組織如骨頭、軟骨、神經、血管、心瓣膜、肌腱....等的組織工程，都是由這個實驗室發展出來。我的研究主題是人耳的組織工程。在先天性小耳症病患，以前傳統的重建方式是用義耳植入或自體軟骨植入。各有其優缺點及考慮的因素，比較讓醫師及病患能接受的是自體軟骨移植。也就是先攫取病患本身之肋軟骨，雕刻成耳朵的形狀，再植入小耳症病患的患側。但缺點是供區可能造成胸廓變形、疼痛，疤痕甚至氣胸等嚴重的併發症。因此，以組織工程學的方法來創造病患所須的耳朵形狀的軟骨的想法是，如果我們能夠只取病患的一小塊軟骨組織，在實驗室做細胞培養 (*in vitro culture*)，可在體外培養得到大量的細胞，然後再將細胞植入 (seeding) 可吸收性的耳形支架 (biodegradable scaffold)，如 PGA (polyglycolic acid)，一段時間後，細胞長入 scaffold，發揮細胞的功能，分泌可維持形狀的細胞外間質 (ECM, extracellular matrix)，如此可維持耳朵軟骨的形狀，再植入活體中，如 mice 或 rabbit，一段時間後，scaffolds 會被生體吸收，理想上，軟骨細胞及其細胞外間質尚在，耳形軟骨組織於焉形成，這是組織工程學的基本概念，但是，後來對於細胞、支架、bioreactor 等的更深入了解，發現細胞來源不只限於 tissue specific cells，尚未分化完全的 progenitor cells 或更原始的 stem cells，也可操控成我們須要的細胞。而各種更適合細胞生長的 biomaterials，如 PGA (polyglycolic acid)，PLLA (poly(-L-lactic acid))，P-4HB (poly-4-hydroxybutyrate)，PCL (polycaprolactone)，也不斷的在研究進步中。

人耳之組織工程概念最早在 1992 年由 Dr. Vacanti 提出，後來在 1997 年發表植入裸鼠的組織工程耳朵，但長期維持耳朵的形狀是一大難題。因此，我這次在實驗室的重點是針對這些問題的研究，本人嘗試以不同的細胞來源 (tissue specific cells, progenitor cells, 和 bone marrow stem Cells)，和

不同的 biomaterial scaffolds (PGA, P-4HB, PCL), 配合不同的細胞培養條件, 希望能創造出可長期維持耳朵三度立體空間的 Tissue Engineering Ear!

每週的實驗室會議 (lab meeting), 每個 research fellow 必須報告本週的實驗室進度及結果, 因此在實驗室來自世界各國的研究員都兢兢業業地做實驗, 期望有所發現與突破。在一個頂尖的實驗室的生活壓力是非常大而辛苦的, 你不但是與來自世界各國的 research fellow 良性競爭, 更是與世界每一個實驗室競爭。一年下來, 深刻的體會到實驗室永遠只有第一, 沒有第二的殘酷現實, 人們永遠只記得第一位製造出桃莉複製羊的人, 誰是第二位製造出複製動物的, 大家也就不那麼在乎了。

三. 心得

一年很快地過去，在實驗室方面，從對 tissue engineering 此一對我而言陌生的領域，經由自己主題的實驗，漸漸熟悉細胞的特性。尤其是軟骨細胞，各種 biomaterials 的 manipulation，及細胞與 scaffold 複雜的相互作用，同時也經由 lab meeting，漸漸熟悉其他各種組織的 tissue engineering 的 principles，如 bone tissue engineering，nerve tissue engineering，liver tissue engineering，lung tissue engineering.... 等等。

除了在實驗室方面的收穫，也注意了解到麻省總醫院不只在服務、教學的品質冠全美，其投入研究之經費（附件一）及人力亦相當驚人，以 2002 年為例，其投入之研究經費高達 USD \$ 357,222,000 美元，相當於台幣約 125 億。頂尖的人才加上充沛的經費，無怪乎研究之成果亦相當驚人。

每年年底，Partners Health Care 系統會對哈佛大學的四大醫學中心，做出成果評估，當然其有許多一定的評估標準。本實驗室是相當 productive 的實驗室，去年得到 Partners in Excellence 獎項，實驗室主持人再依平常個人之表現推薦得獎人，本人幸運地在 fellowship 結束前得到 MGH 之傑出研究獎（附件二）。所做實驗之結果，已寫成論文「Tissue Engineering Auricular Reconstruction—*in Vitro* and *in Vivo* Studies」（附件三）投稿至 Biomaterials 雜誌，其乃 Biomedical Engineering 排名前兩名的雜誌，最近已被該雜誌接受。

四. 建議

1. 在生活方面:

初到美國，舉目無親，費了一番心力，才將生活之食、衣、住、行安頓下來，短短一年的進修期限，已經過去 1-2 個月，進於研究之影響甚鉅。建議成立一專責機構或人員可幫忙安排及安頓初到留學地的生活，對於進修者的研究工作或其家屬，一定有所助益。

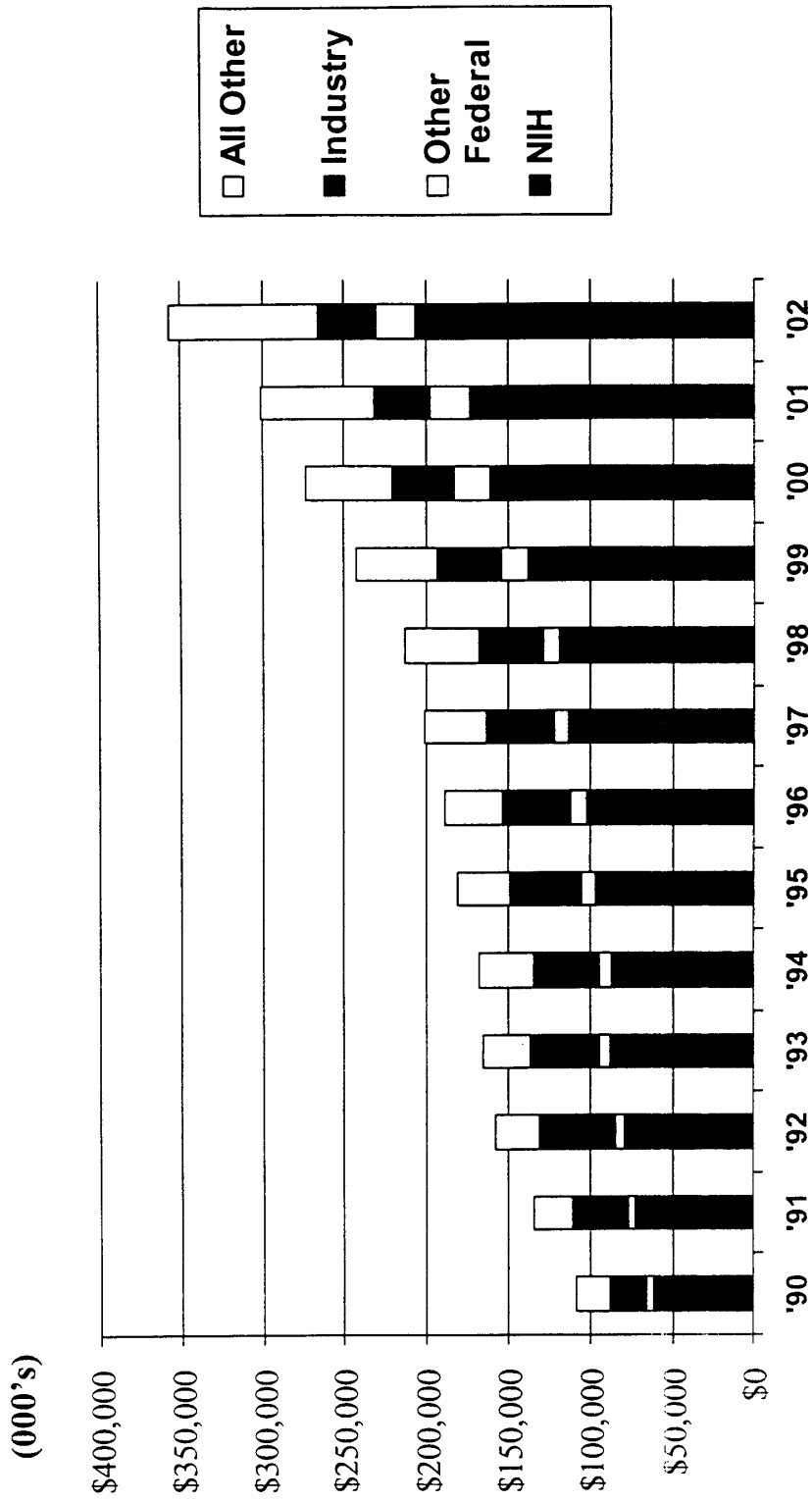
2. 在研究方面：

實驗室的研究員與臨床醫師所熟悉的臨床工作是截然不同的。臨床醫師如能先有實驗室的經驗，比較能儘快進入狀況。因此建議在住院醫師階段，如能有 1~2 年的實驗室經驗，必能培養出更多的 Physician Scientist。

進修的時限，現教育部僅有一年，短短的一年要有很好的研究成果實在是不容易，許多國外的實驗室現在也只接受至少為期兩年的 fellowship，因此建議進修期間如延成兩年，可能較符合實際狀況及現在的潮流趨勢。在研究經費宜投入更多，相較於國外研究經費的天文數字，我們應想辦法尋求更多的資源及整合，不要讓有心致力於研究的人員捉襟見肘。

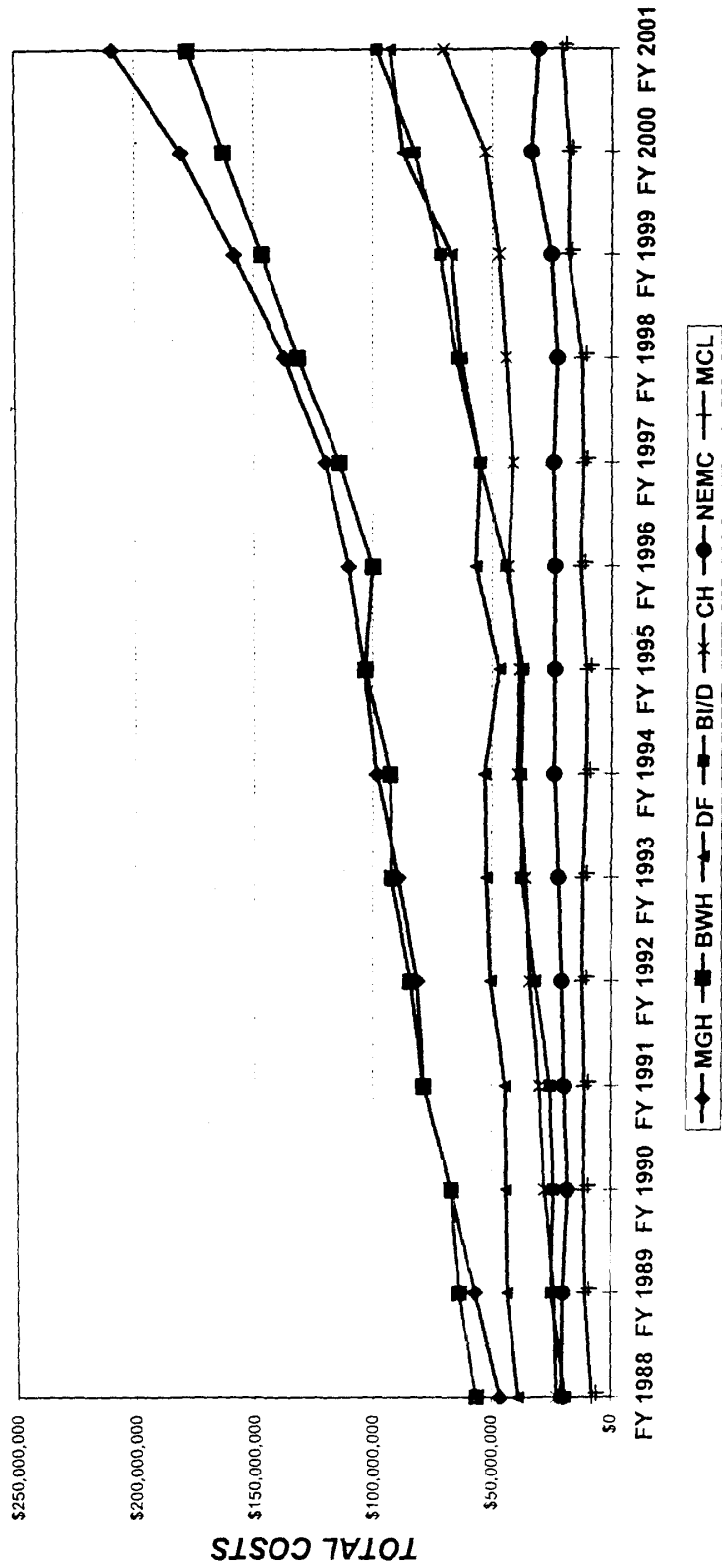
8434-

MGH Research has Grown 227% over 12 Years FY 1990 – FY 2002

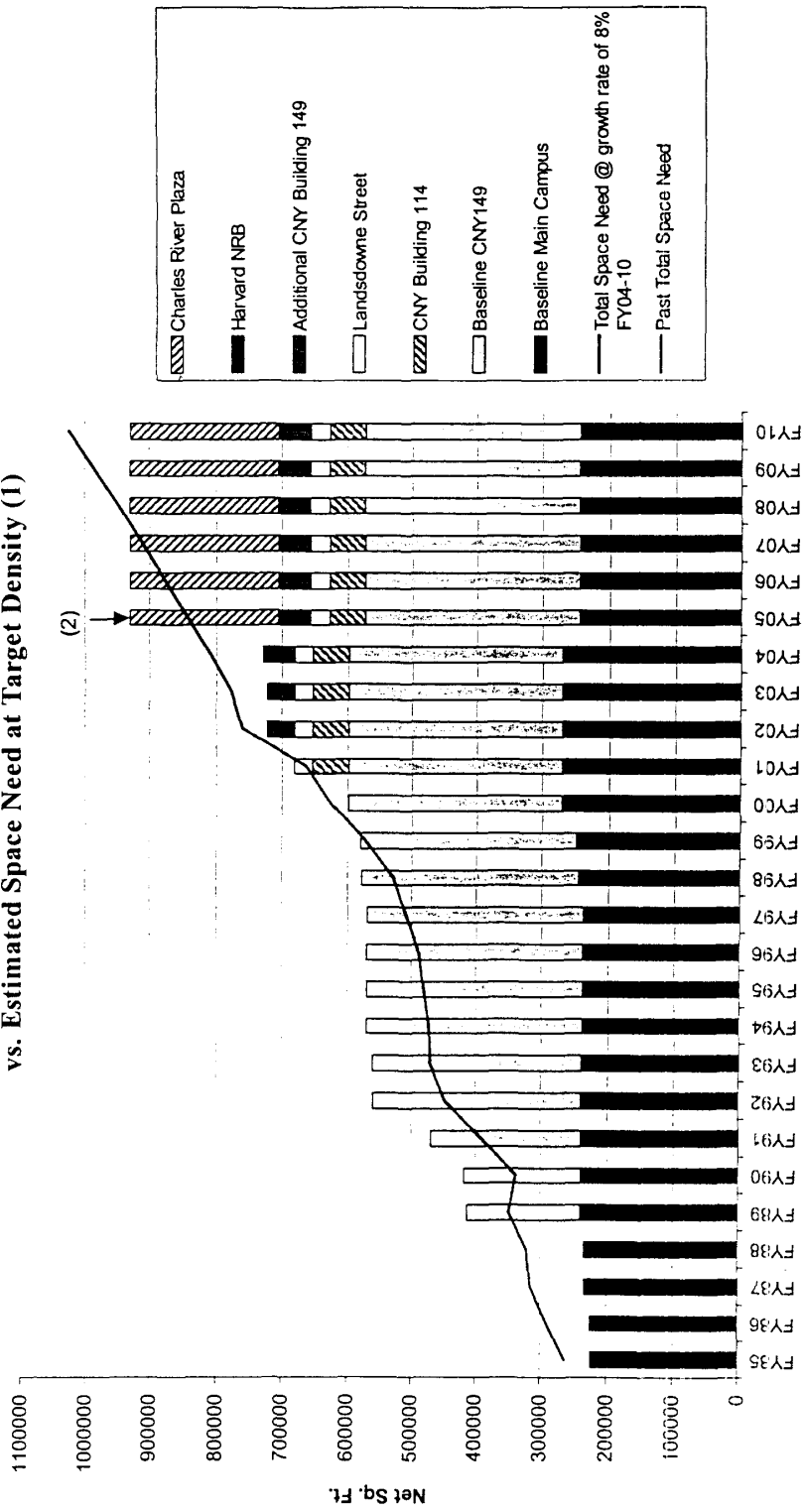


01/17/03
Direct & Indirect Research Expenditures

FY 1988 - FY 2001 NIH AWARDS to BOSTON HOSPITALS



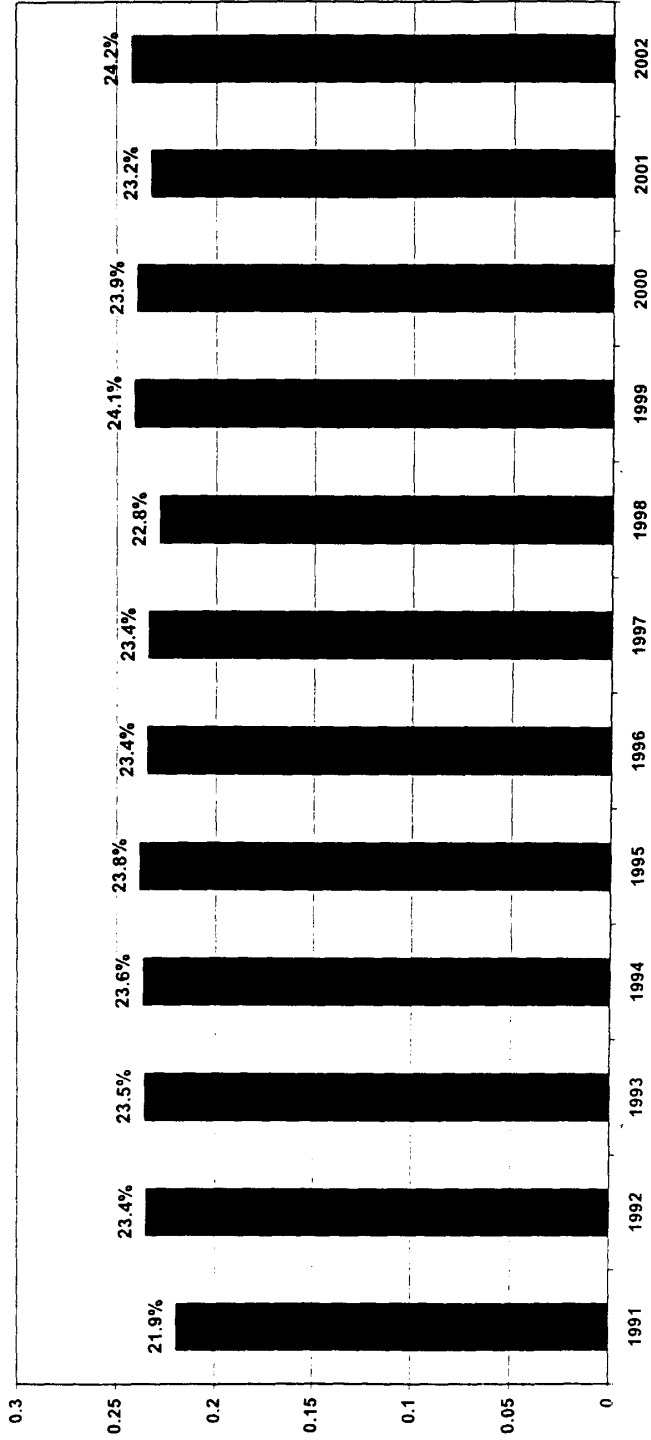
Historical and Future MGH Research Space vs. Estimated Space Need at Target Density (1)



Note (1): Assumes Main Campus Density of \$270/NASF, CNY149 of \$185/NASF and \$240/NASF for New Buildings (in FY2000 Dollars).
 Net Assignable Sq. Ft. Excludes Animal Space.
 (2) CRP Lease Starts May 2005.

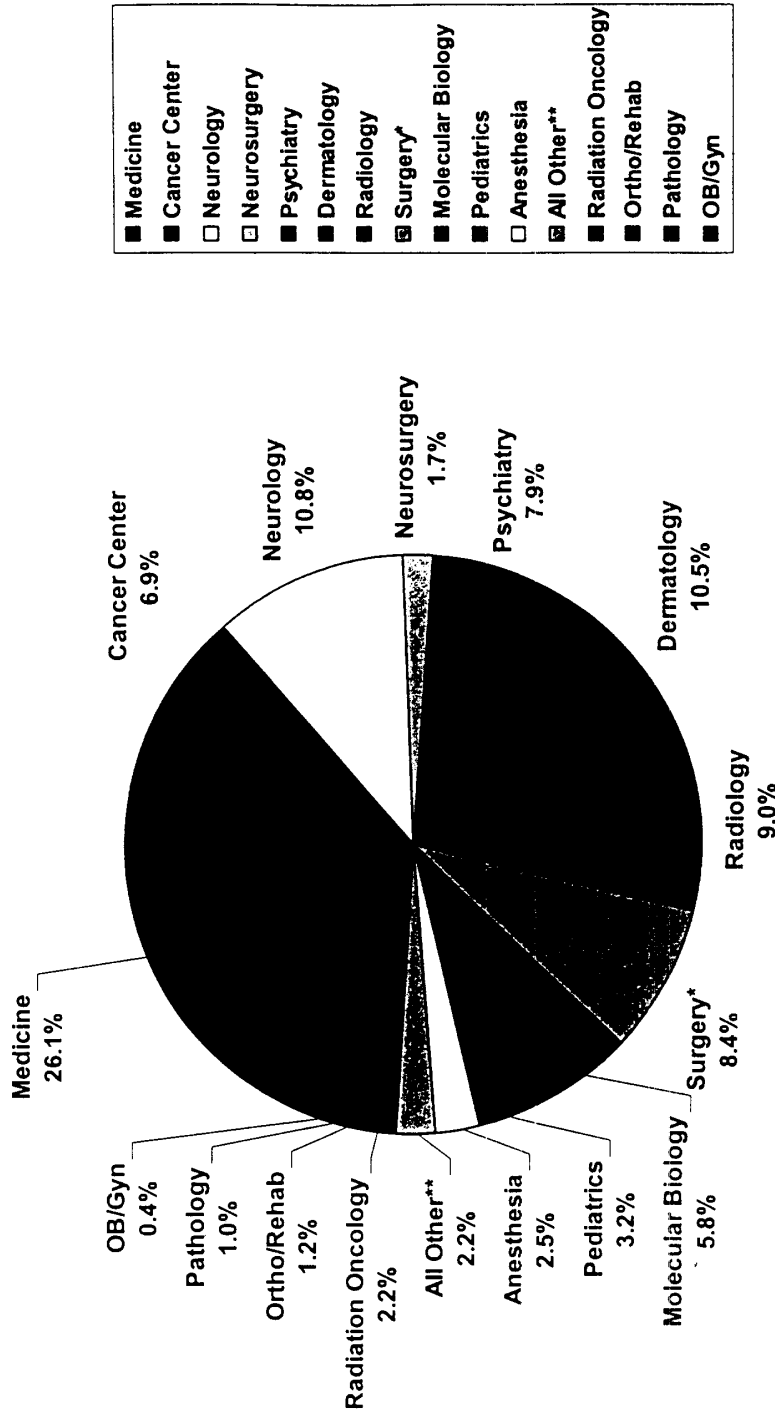
01/17/03

**MGH RESEARCH EXPENDITURES
as a PERCENTAGE of TOTAL OPERATING REVENUE**



Note: Research Expenditures represented as total direct & indirect costs

FY 2002 MGH Research Expenditures by Department Direct & Indirect Expenditures \$357,222 (000's)



* Surgery includes Pediatric Surgery, Oral surgery and Urology

** 'All Other' represents Administrative Departments

01/17/03

Handwritten mark: a vertical line with a horizontal bar at the top, resembling a stylized 'H' or a signature element.



PARTNERS IN EXCELLENCE AWARD

PRESENTED TO

Shyh-Jou Shieh

DECEMBER 2002

IN RECOGNITION OF OUTSTANDING PERFORMANCE
AND COMMITMENT TO EXCELLENCE

Peter I. Slavin

Peter I. Slavin, M.D.
Chairman and CEO

Massachusetts General Physicians Organization

James J. Mongan

James J. Mongan, M.D.
President

Massachusetts General Hospital

PARTNERS HEALTHCARE

Samuel O. Thier

Samuel O. Thier, M.D.
President and CEO
Partners HealthCare

附件三.

Tissue Engineering Auricular Reconstruction

----- *In Vitro* and *In Vivo* Studies

Shyh-Jou Shieh, M.D., Ph.D., Shinichi Terada, M.D., Ph.D., Joseph P. Vacanti, M.D.

From the Laboratory for Tissue Engineering and Organ Fabrication, Massachusetts
General Hospital and Harvard Medical School, Boston, MA

Shyh-Jou Shieh, M.D., Ph.D.

Post-Doctoral Research Fellow

Laboratory for Tissue Engineering and Organ Fabrication, Massachusetts General
Hospital

1157 Warren, 55 Fruit Street, Boston, MA 02114, USA

Phone: 617-724-1725

Fax: 617-726-5057

E-mail: sjshieh@mail.ncku.edu.tw

Shinichi Terada, M.D., Ph.D.

Post-Doctoral Research Fellow

Laboratory for Tissue Engineering and Organ Fabrication, Massachusetts General
Hospital

1157 Warren, 55 Fruit Street, Boston, MA 02114, USA

Phone: 617-724-1725

Fax: 617-726-5057

E-mail: sterada@big.jp

***Corresponding author:**

Joseph P. Vacanti, M.D.

Director of Laboratory for Tissue Engineering and Organ Fabrication

Department of Pediatric Surgery

Massachusetts General Hospital

1157 Warren, 55 Fruit Street, Boston, MA 02114, USA

Phone: 617-724-1725

Fax: 617-726-5057

E-mail: jvacanti@partners.org

Abstract

Although investigators have demonstrated that neocartilage can be constituted in a predetermined shape and in complex three-dimensional structures, such as a human ear, by using cell transplantation on polymer constructs, many unsolved problems still remain. The crucial issues for auricular tissue engineering consisted of optimal cell culture environment, choice of polymers, behavior of chondrocytes, study of cell-polymer constructs in an acceptable animal model, and long-term structural integrity. Here we describe our tissue engineering approaches for auricular reconstruction including auricular scaffold fabrication, *in vitro* chondrogenesis, *in vivo* immunocompromized xenograft and immunocompetent autologous animal models, and long-term follow-up. Though many current obstacles regarding auricular tissue engineering still exist, we demonstrate techniques of auricular scaffold fabrication with promising *in vitro* and *in vivo* neocartilage formation, optimal selection and application of animal models, and, to the best of our knowledge, the first report of different biodegradable biomaterial trials and the longest *in vivo* results (10 months) for auricular tissue engineering.

Key words: auricular tissue engineering; chondrogenesis; animal model.

1. Introduction

Reconstruction of the total external ear remains one of the most difficult challenges in reconstructive surgery [1]. A continuous debate over the two major reconstructive approaches -- alloplastic prosthesis implantation versus autologous cartilage grafts -- is still ongoing. The advantages of alloplastic implants, such as silicone [2,3] or polypropylene [4,5], include widespread availability, consistent predetermined shape, and shortened operation time. However, risks of infection, extrusion, biocompatibility, and uncertain long-term durability are major concerns. Osteointegrated alloplastic auricular reconstruction [6,7] is considered in the following indications: cancer resection, poor local tissue, radiotherapy, absence of lower half of the ear, salvage following failed autogenous reconstruction, and poor operative risks. Autologous costal cartilage is the most commonly used and preferred material for total external ear reconstruction [1]. Tanzer [8,9] and Brent [10,11] demonstrated good long-term durability and cosmetic results by using sculptured autologous costal cartilage grafts. Nevertheless, technical skills of the surgeon are of paramount importance. It also has the disadvantages of being less consistent, extensive operation time, and donor site morbidity.

The engineering of autologous parts is a promising concept and technology with potential for tissue replacement. The pioneering work by Vacanti et al. demonstrated that bovine chondrocytes seeding onto synthetic, biodegradable scaffold could produce neocartilage after transplantation into athymic mice [12]. They further reported that cartilage can be created in predetermined shapes and dimensions using cell transplantation on appropriate polymer templates [13,14], even in a complex three-dimensional architecture, like a human ear [15,16]. Hence, we propose auricular reconstruction by tissue engineering as a potential approach.

The goal of auricle reconstruction is not only to produce neocartilaginous tissue, but also to create a detailed three-dimensional frame work that can be maintained over a long period of time when possible. Although investigators have demonstrated intricate three-dimensional tissue engineered structures in the shape of a human ear with excellent initial cosmetic detail, the architecture could not be maintained over time [15,16,17]. There are many critical factors involved in this difficult issue, including cell source, scaffold construction, cell seeding, culture environment, neocartilage and matrix production analysis, mechanical properties of cell-polymer construct, and a suitable animal model. In our laboratory, we still continue to investigate these complicated variables with regards to the creation of an auricle and the loss of shape. In this article, we describe *in vitro* and *in vivo* approaches, and the long-term results of a tissue-engineered ear.