

出國報告（出國類別：進修）

關節軟骨組織工程之研究

服務機關：國立台灣大學醫學院附設醫院

姓名職稱：江鴻生 主治醫師

派赴國家：美國

出國期間：一年

報告日期：民國 94 年 12 月 15 日

摘要

本次奉派出國進修一年，目的在銜接職所屬單位刻正研究發展中的「關節軟骨損傷修補」，赴外修習其中關鍵技術之一的「組織工程 (Tissue Engineering)」。

按，關節軟骨為自體移植體 (autograft) 不易取得之人體組織，因此對範圍較大的軟骨損傷，必需尋求體外培養所得之組織塊、做為修補材料。本單位現階段亦著手研發此一體外培養技術，其中生醫物質設計產製、及組織工程基本技術等，並與國內工業技術研究院、及國外美國國家衛生研究院等單位合作研發。為達深入了解其中關鍵技術、以加強跨領域深度合作之目的，乃受命赴美國國家衛生研究院實地了解並修習相關之生物技術，以利該項臨床技術在國內之後續發展。

目次

	頁次
壹 目的 -----	4
貳 過程 -----	5
參 心得 -----	10
肆 建議事項 -----	13

壹、目的

由於國內目前全力發展生物科技，本人於工作之專業領域內，亦以利用組織工程技術發展體外軟骨組織培育之技術，以供日後臨床上修補關節軟骨缺損之用。組織工程技術為一跨領域整合生醫技術，主要包括三方面：

- 生體細胞：為產製組織之基礎，
- 生醫材料：製造細胞生長之海綿狀棚架（scaffold）
- 組織培養：將載有細胞之海棉體培養成組織塊的技術

其中前二項國內目前研發已有相當水準（生醫材料部分，因涉專利等問題，發展較為複雜；國內外各實驗室乃至生醫工業界各擅所長。），但組織培養部份，牽涉理論性與實務性之多方問題，目前國內技術上有相當改善空間。這包括培養用藥劑（包括各種生長激素）昂貴及取得困難、培養環境的調控技巧（諸如物理及化學因素的調控等）等等問題，導致組織生長、形成狀況未趨良好。

由於生醫技術及產業為本世紀世界各國重點發展之對象，先進國家論文發表迅速，因此決定赴美國國家實驗室修習完整組織培育技術。

貳、過程

➤ 研究機構簡介

本次進修對象機構為：

美國衛生署（Department of Health and Human Service, HHS）所屬：

國家衛生研究院（National Institutes of Health, NIH）中的：

國立骨科暨皮膚科研究學院（National Institutes of Arthritis, Musculoskeletal and Skin Disorders, NIAMS）。

實際從事研究之所在為 NIAMS 內所屬的：

骨科軟骨部門（Cartilage Biology and Orthopaedic Branch, CBOB），

該單位主任 Rocky S. Tuan 博士為國際知名之骨科生物技術專家，其目前之核心研究之一即為關節軟骨之組織工程，目前該部門已有其所領導的相關領域論文約 30 篇發表於國際學術期刊(包括與國內本單位合作之論文 1 篇，2005 年發表)。

NIH 之主園區位於美國首府華盛頓特區西北方約 6 英里處、

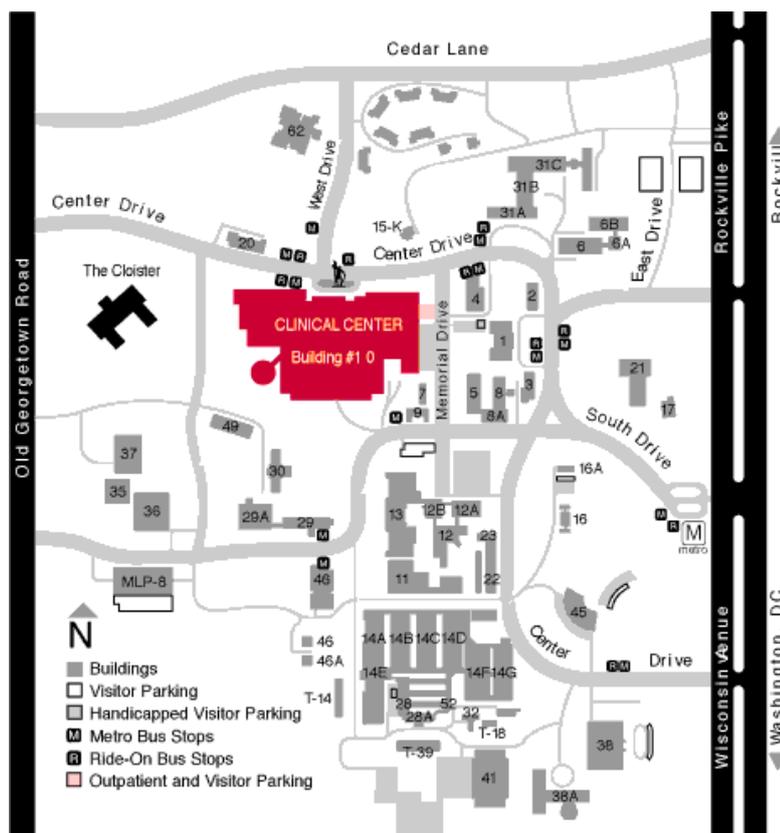
Maryland 州的

Montgomery 郡

內。該園區位於該

郡市之 Bethesda

市郊，佔地遼闊，



NIH 之 Bethesda 園區，紅色建築為附屬的臨床醫療中心及臨床醫學研究中心。

大小建築錯落其間，隔公路對面即為美國海軍總醫院（Naval Medical Center）。NIH 組織上有一個管理中心（Office of Directors, OD）為下轄各單位主管集中組成，並設有各項行政辦公室，包括國際事務室、安全警衛室等等。其下擁有 7 個中心（包括臨床醫療中心、資訊中心等），及 20 個學院（包括國立醫學圖書館 National Library of Medical, NLM）。NIAMS 即為這些學院之一。這其中最大的建築是臨床醫療中心，基本上是一座醫院，但其所提供的醫療服務僅限臨床試驗（Clinical trials），是一座研究型醫院，並不提供一般例行醫療服務、也沒有急診室。這在國內是沒有看過的醫院型態，其運作方式主要是擬定臨床試驗計劃（例如新藥）後，公開招募願意參與的病患（自知曾被診斷出患有該疾者）、及接受基層及其他醫療院所的轉介。依照國內當前國情，此種運作方式恐有實施上之困難。

NIH 為美國國立主掌生命科學研究的最高研究機構，每年研究經費高達三百億美元左右，員工多達二到三萬人。但其員工結構較為特殊，真正編制為聯邦僱員的僅佔極少部份，主要是行政人員和各級主管研究人員（Primary Investigator, PI）、以及少數技術人員（technician）。其他則為：外包人員（Contractor，人員隸屬某公司，NIH 將研究計畫外包給該公司、付款給該公司，人員則實際在 NIH 從事各種工作，由公司支薪。研究人員亦以此種方式運作。）、客座研究員（Visiting Researcher，例如此次即以此種身分進行研究）、學士級研究員（Post-bact）、短期研究員（如接受代訓各大醫院住院醫師的基礎研究訓練，為期三個月至半年不等。）等等。

此次進修研究，首先如上了解其組織架構及運作情形，然後返回單位內觀摩其研究設施及研究進行方式。CBOB 對骨骼肌肉系統的研究，主要包括：

- 相關之分子生物學（molecular biology）研究
- 生物力學研究：包括組織應力研究及骨科材料機械性研究
- 組織工程

所以研究人員專長歧異，包括生物學（含臨床醫師）、化工（人數較少）、機械工程等學門之研究人員，真正是一跨領域合作之研究單位。

美國人權高張，所以人體標本來源有限，動物實驗審核及規範嚴苛、遑論人體臨床試驗。NIH 與鄰近數家醫學中心有合作關係，但是臨床提供的可供研究的標本（主要是手術切除的組織樣本）為數仍希，反而是此地生醫研究的醫大阻力。研

究期間，我亦嚐試親自進行實做，以實際熟習操作技術。

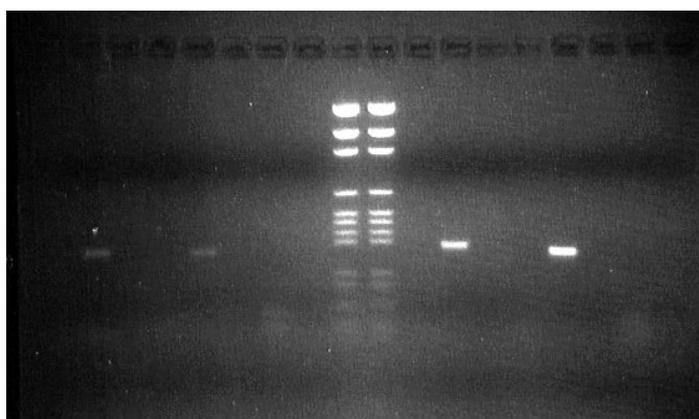
➤ 實驗內容

實做目的設定於：由人體骨髓間質幹細胞（Bone marrow-derived mesenchymal stem cells, MSC）分別誘導成爲軟骨生成細胞、及骨骼生成細胞，然後分別植入一多孔海綿狀材質的上下兩半，使該海綿塊長成一端帶有軟骨的骨塊（osteochondral plug），可供手術移植、修補取代受損軟骨或骨骼軟骨。

MSC 由手術標本的海綿骨（trabecular bone）刮下後，分別以軟骨誘導培養基（含有乙型變形生長激素 TGF- β 1）及骨誘導培養基培養三週，使其分別成爲軟骨生成細胞及成骨細胞，然後種植到生醫材質的海綿塊上。種植用的海綿材質採用現成購得的上市產品，成分爲聚乳酸（Polylactic acid, PLA），是 Kensey Nash 公司出品的「Drilac」。種植細胞後的海綿材質塊繼續在共同培養基中培養成組織塊，三週後取出觀察組織塊外觀，並以反轉錄聚合反應（Reverse transcription polymer chain reaction,



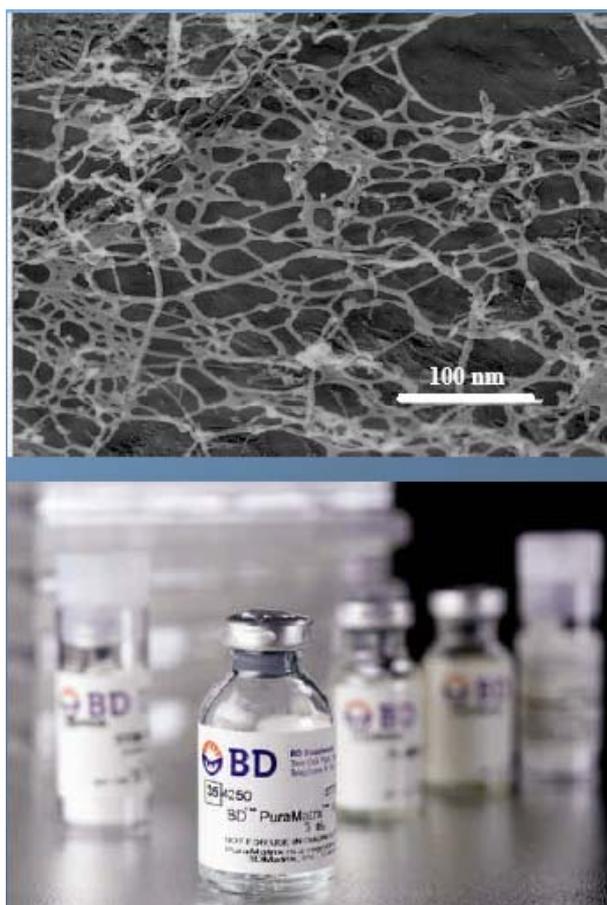
培養所得的骨軟骨塊。右方爲軟骨部份，此爲未使用組織膠之例子，骨骼與軟骨的界線不明顯，軟骨部份有收縮變型現象（材質塊於細胞植入之初爲直徑均一：8mm 的圓柱型體）。



上示組織塊的 RT-PCR 結果，顯示細胞可以正確表現第二型膠凝蛋白。

RT-PCR) 驗證軟骨細胞對第二型膠凝蛋白 (Type II collagen, 為軟骨的主要細胞間質成份) 表現的能力。實驗結果如右圖示, 發現有若干缺點, 主要是骨骼與軟骨的界線不明顯, 以及軟骨部份有收縮變形現象。

為改善缺失, 實驗在軟骨部分加以改良, 將軟骨生成細胞混載 (懸浮) 於液態凝膠中, 然後才植入海棉塊內。植入後, 立刻使凝膠凝固, 藉以支撐軟骨組織形成過程中之固定體積; 另一方面亦更明確限定軟骨組織的範圍, 冀期藉使軟骨與骨骼之間形成緊密接合, 但區隔明顯的界線 (tidemark)。凝膠採用 BD



BD Biosciences 公司出品的多胜質凝膠

Biosciences 公司生產的多胜質

凝膠 (PuraMatrix Polypeptide Hydrogel), 其於原狀時為液態, 接觸鹽類 (如鈉鹽或鈣鹽) 後立刻凝固為凝膠狀。故可與細胞混合後、趁其尚為液態時滲植入 Drilac 中, 然後立刻滴上生理食鹽水使其凝固, 接著才在圓柱體另一端種上成骨細胞。使用之濃度為 2%, 而 Drilac 海棉塊孔度為 96% 左右, 扣除凝膠所佔體積, 最終的孔度仍可達 94% 以上, 足供細胞生長。但此種方式亦有操作上之困難, 因為細胞本身含有鹽分, 即使反覆以等張糖水灌洗, 仍無法完全去除其表面鹽分; 因此與 PuraMatrix 混合後, 後者仍呈部份凝膠化, 致使懸浮液吸取及轉移到海棉塊的過程變得十分困難, 大量細胞因粘附於微吸管 (Pipet) 內側管壁而告損失。本部份實驗至進修期滿時仍未完成。

後續計畫本來尚包括:

- 使用生物反應器 (Bioreactor) 進一步改善組織培養成效,
- 將所得組織塊植於生體, 觀察其與生體接合 (integration) 情形。

等等，可於日後在國內繼續進行。

➤ 其他相關修習項目

實驗過程中亦不定期參加各式講習，內容包羅萬象，包括

- 實驗室生物安全管理（Laboratory biosafety management），
- 人體標本實驗安全與實驗倫理規範，
- 資訊網路安全防護，甚至還包括：
- 大學部及研究所課程教學方法及實做講習。

其中最後者乃因 NIH 除進行研究工作外，亦積極培育其國內高等教育師資人才，輔導研究者轉任教職，所以也提供諸項教育技巧課程，甚為周到。

參、心得

本次進修於學術方面之主要心得為：其實國內相關研究設施不差美國先進單位太多，雖然一些尖端技術（包括硬體設施及人員技術）我們尚無法與之並駕齊驅，但一般研究工作之遂行，牽涉該等尖端技術設備者其實只是一小部份，必要時可以派員如本人此次進修模式前來修習、或建立暢通之國際合作管道採合作進行方式即可，研究之大部分過程可以於國內實施。

其他心得包括：

► 研究工作必須藉助電腦資訊網路的充分運用

研究單位首重資訊之交流、取得與運用。美國此一方面發展完備，除機構本身有專責資訊中心（Center of Information Technology, CIT）外，機構下轄主要部門均有專職人員負責資訊網路事務、及協助研究人員使用資訊網路。其網路運用舉其大者包括：

- 新進人員的線上指導課程，協助新進者快速熟悉環境、進入正常工作。
- 辦公室中主要訊息均以電子郵件傳遞，真正達到無紙辦公室之程度。
- 相關學術資訊，如圖書資料等，盡量以電子方式提供參考。

如此高度電子及網路化，其資訊安全亦未被輕忽，有專職人員負責建立及監控網路安全機制。雖然其此方面建設完備，但其硬體設施並未無的放矢之盲目擴充。網路以普及為重、實用為主，使用者端並未配備多高級之硬體設施（較之國內甚至有些落伍），但務求普及深入每一使用角落，幾達人擁一機之普遍率。此種架構有利機構內人員之緊密聯繫，及資訊之即時、快速傳遞。除有利行政事務部分之效率提升外，在學術研究者方面，可以方便取得所需之最新資訊、及橫向合作資源之取得與利用，極有助於研究工作進展。

我國雖號為資訊王國，但相關網路之軟硬體建設、發展較之美國仍瞠乎其後。主要非硬體設備之投資不足，而是欠缺專職人員的編制。國內研究單位多無資訊專業人員之編制，研究人員不但無法迅速取得所需資訊，亦無法得到相關人員協助；相反地反要「外行執事」去規劃、建設資訊網路設施，其品質泰半無法與專業人員作品相比。此點值得長官參酌。

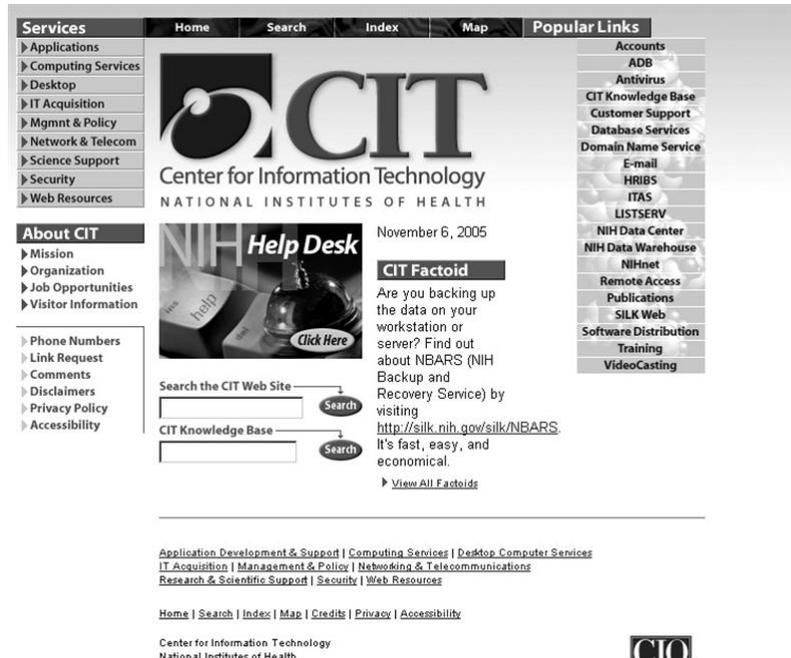
► 醫學研究必須有完善的法律保護

美國看似人權高張，導致醫學研究規範嚴苛、進行不易，其實法律規範等亦提供研究者相對的保障。病人相信主管機關的規範能力將會保障其權益，因此願意在規範許可下充分與研究單位合作。臨床試驗即是一例，受試者不會感到自身權益受損，相信自己所做是有意義之舉、因此也會受到妥善尊重與照顧，不需衝撞規定、自力救濟；而研究者必須遵循重重法規

規範，必將使其服務維持相當程度水準。這對受試者和研究者兩方面都有好處，可以得到雙贏的研究成果。

而國內目前的研究困境之一就是法律規章的不完備，不僅使研究者無法可適，而民眾在社會上民粹主義掛帥的氛圍下，對研究者的專業有相當的不信任，而且在懷疑自身權益受損時，常採用不理智的方法、對研究者進行報復式的反饋。這種雙方面猜疑對立的狀況，絕非一個良好的研究環境。

再者，國內民眾雖專業知識不足，但常在其他非專業人員鼓動下，質疑研究者的專業，並篤信「抗爭」才能得到「合理」待遇，只要把事捅大、就可以得到特殊優厚的處置，而且可以因人設置。相較於這種情形，國外民眾守法及尊重專業的



NIH 的資訊中心網站首頁。其中央醒目位置即為提供所有成員技術援助的服務鈕（Help Desk），點選後，該處可供使用者略述問題內容，再由專人發派相關專業人員前往協助使用者。由於透過此種管道，故每一求助需求（稱為「ticket」）均有電腦紀錄、並加以編號，必須確認使用者問題解決後，才可作成紀錄並銷案。

修養顯然遠勝，這一部分是因為法律規章的完備、一部分是因為守法教育的落實、再一部份也是因為強力的公權力對當事雙方都提供強制性的對等限制與保障，所以研究得以順常軌而行。所謂「家和萬事興」，論諸社會國家其理亦然。以國內紛囂的社會環境，使本來極有發展條件的生醫研究緩步不前，實在可惜！

肆、建議事項

本次進修雖主要在修習軟骨組織工程之實做技術，但意外地對於研究單位的組織與運作方式，有一相當的認識，可供將來國內新成立或現有研究實驗室運作的參考。

另外，國內手術切除之標本不少，卻欠缺完善管理運用系統，很多成爲醫療廢棄物，尚需額外經費處理。其實這些標本都是珍貴的生物醫學研究材料，只要提供臨床醫療體系與研究學者間通暢的溝通管道、以及完善的監督管理，將成爲國內生物醫學研究的一大長處，值得衛生主管機關參考。