



iPS 誘導性多功能幹細胞

誘導技術讓其他體細胞成為多巴胺細胞

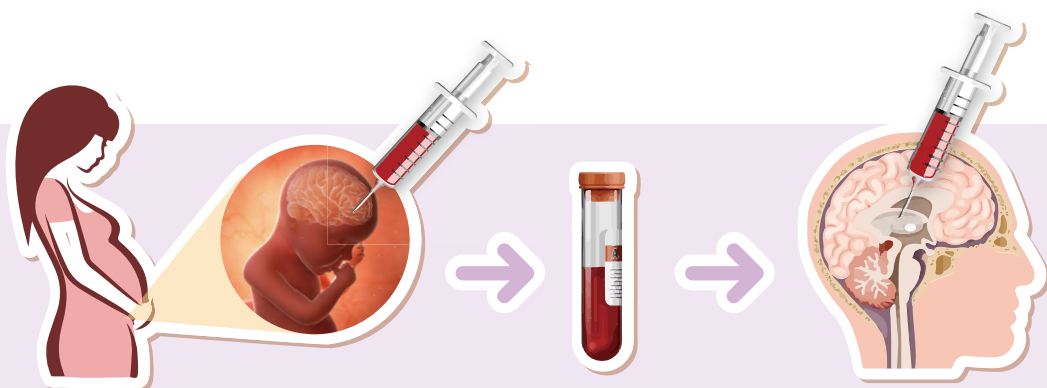
文／林靜嫻 臺大醫院神經部主治醫師

陳孟伶 臺灣大學生命生科院博士候選人

幹細胞用於疾病治療由於涉及醫學倫理，且面臨癌化機率升高等風險，研究發展過程幾經波折。所幸在各國科學家前仆後繼投入的研究中，逐一突破瓶頸；目前已在靈長類動物實驗獲致初步成功，人體臨床試驗的成果指日可待。

隨著世界人口老化，巴金森病的盛行率日漸攀高，目前台灣約有4萬名患者；根據估計，到西元2050年，巴金森患者人數將會是現在的兩倍。

巴金森病理上最主要的特徵為腦幹黑質中的多巴胺神經元凋零死亡，在殘留的神經元細胞質中有不正常的路易體沉積；這些變化導



早期以幹細胞治療巴金森係將胎兒腦中神經細胞植入病患中腦的紋狀體，確實見到成效。但因其使用的胚胎幹細胞多半取自墮胎嬰兒，引起醫學倫理的道德爭議。

致下游的紋狀體接收不到足夠的多巴胺，造成「大腦－基底核」之間迴路異常。而這個迴路正是調控動作的關鍵，其異常便導致種種動作障礙。

為什麼幹細胞為治療帶來新希望？

雖然目前巴金森有藥物治療或深腦刺激術可改善病友的症狀，但隨著年齡增長或罹病時間拉長，多巴胺神經元繼續退化、病情逐漸惡化的病程趨勢，也暫無解決之道。所幸，在全世界科學家的努力之下，有關巴金森的基因治療及細胞治療皆有重大進展。其中，幹細胞治療對於多巴胺神經元持續凋亡中的病人來說，毋寧是「逆轉頹勢」的一線希望。構成我們身體的細胞類型超過 200 種。有些疾病，是因為身體某一種細胞失去功能所致，例如「巴金森病」起因於多巴胺細胞失去功能，就是很典型的例子。對於這類疾病的治

療，科學家設想嘗試藉助幹細胞技術來補充細胞喪失後缺失的功能。自從胚胎幹細胞被發現後，臍帶血的應用、複製羊桃莉的發表，再生醫學的議題就不斷的出現。幹細胞研究帶來現代醫學治療的新契機，目前在慢性病重症、遺傳性疾病、自體免疫疾病，以及癌症等領域均有突破性的進展。

胚胎幹細胞治療遇到什麼瓶頸？

幹細胞治療的研究發展並非一帆風順，同時面臨了技術層面及非技術層面的種種瓶頸，例如：幹細胞取得的醫學倫理問題；使用後出現預期外的變化等問題。

2001 年，美國前總統布希（George W. Bush）對取材自植入前胚胎的幹細胞研究下達禁令。此後的研究發展，就不再使用胚胎幹細胞，而以成人幹細胞為主。禁令的考量點在於，使用人類胚胎幹細胞，涉及醫學倫

理問題；胚胎幹細胞來源若為墮胎寶寶，更違反了人道精神。

另一類問題則包含：一、臨床研究發現，病人注射胚胎幹細胞後，癌化機率較高，增加致癌風險。二、胚胎幹細胞屬於原始分化，注射之後，部分患者產生畸胎瘤，也就是不成形的肉瘤，裡面可能包含毛髮、牙齒、肌肉、皮膚等組織。

目前世界各國除了烏克蘭、中國大陸等國家仍有少部分私人診所不顧道德及醫學倫理私底下幫病人施打胚胎幹細胞外，學術界幾乎全面禁用胚胎幹細胞進行研究。

胚胎幹細胞應用於巴金森的研究

自西元 1980 年代起，開始有的巴金森動物實驗結果顯示，於巴金森動物模式植入健康小鼠的中腦多巴胺神經細胞，可以增加對紋狀體多巴胺的刺激，延緩動作症狀的惡化，依此開始了巴金森細胞治療的先驅。

巴金森的細胞治療臨床試驗最早即以移植胎兒中腦細胞至病患的紋狀體開始。因為紋狀體即為中腦多巴胺神經細胞分泌的多巴胺接受處。科學家相信藉由植入健康未罹病的中腦細胞（內含多巴胺神經細胞），可以彌補漸漸耗損的多巴胺神經細胞（左上圖）。而早期實驗所使用的胚胎幹細胞常取自墮胎胎兒的腦組織。

1980 年代，最早針對巴金森患者進行的胚胎中腦細胞移植臨床試驗於美國及歐洲進行，約有 400 多名病患參與這項試驗。在初期臨

床試驗中，許多病患的動作症狀獲得改善；在 18F-DOPA 多巴胺神經細胞掃描中也看到進步¹⁻⁴。這個試驗成果，開啟了於美國進行的兩個大型安慰劑對照、雙盲之臨床試驗：Colorado/Columbia trial⁵及 Tampa study⁶。

Colorado/Columbia trial 的試驗結果顯示，只有年輕病患組（小於 60 歲）接受胚胎中腦細胞移植才有顯著的症狀改善，其巴金森症評估量表（Unified Parkinson's Disease Rating Scale Scores，簡稱 UPDRS Scores）進步達 34%；Tampa study 的結果也顯示，只有臨床症狀較輕微的受試者其 UPDRS 進步分數較顯著。令人振奮的是，這些接受細胞移植的患者，許多人移植而來的多巴胺神經細胞可以存活長達 10 年以上，並已和局部的紋狀體神經細胞建立網路連結，可持續分泌多巴胺。

然而，試驗中也發現少數患者其移植的胚胎多巴胺神經細胞中，帶有巴金森患者細胞中會出現的病理阿爾法突觸蛋白（ α -synuclein）的不正常累積。這項發現雖然開啟了其後 10 年間，科學家懷疑的「阿爾法突觸蛋白會在細胞間傳遞」的假說與驗證；所幸這些移植細胞中只有約 1-5% 帶有阿爾法突觸蛋白的病理蛋白累積，因此，細胞移植的治療方向仍被大多數科學家與醫師肯定，並進一步探討阿爾法突觸蛋白的病理蛋白在神經細胞中之角色。

榮獲諾貝爾獎的重大技術突破

然而，胎兒中腦細胞的來源一直存在著許多

問題。除了前述一般胚胎幹細胞的倫理爭議之外，移植一位巴金森患者所需的細胞量，需要 4-6 位墮胎胎兒才足夠；中腦細胞的黃金移植時間效期很短暫，只有在細胞第 9-11 周期間移植效果最好；中腦細胞的品質會隨存放時間而遞減。此外，因為移植時會混雜許多胚胎的細胞，無法品管移植細胞的 HLA 免疫抗原表現，可能會引起移植後的免疫反應。

2006 年，日本京都大學山中伸彌（Shinya Yamanaka）的研究團隊從小鼠身上取一小塊皮膚培養為纖維母細胞（Fibroblast），再植入 4 個轉錄因子（Oct3/4、Sox2、Klf4 和 c-myc），即可以促使纖維母細胞重編程（reprogramming），形成具有多功能幹細胞的分化能力，該團隊將這些多功能幹細胞命名為「誘導性多功能幹細胞（induced pluripotent stem cells，簡稱 iPSC）」；並且在隔年成功地將人類皮膚纖維母細胞誘導為誘導性多功能幹細胞。山中伸彌本人也因為這項成就，於 2012 年榮獲諾貝爾生理醫學獎。這項技術迴避了使用人類胚胎幹細胞引發的倫理道德問題，且有效降低免疫排斥風險，成為再生醫學領域中的熱點話題。

幹細胞新來源： 誘導性多功能幹細胞

2014 年，一位日本女性成為第一個接受來自 iPS 細胞的患者，用於治療眼底黃斑部病變。iPS 細胞雖可針對個體患者量身訂製，因而不需使用針對外來組織的免疫抑制的藥物；

但這麼做的代價十分高昂，可能要花上數月時間才能培養出合適的神經元。

誘導性多功能幹細胞技術發展至今已有 10 年。這十年間，iPS 細胞在疾病治療領域上仍屬研究初期。由於 iPS 細胞有無限更新、複製的能力，因而也是一把雙面刃：伴隨著細胞複製，突變機率也提高了，從而增加致癌等風險。在某些疾病的 iPS 臨床試驗中，確實發現患者的 iPS 細胞存在基因突變。所幸，新的技術可以避免植入可能誘發致癌性的 c-myc 基因，並以新的的幹細胞培養方式（feeder-free），可以更方便的產製誘導性多功能幹細胞。

誘導性多功能幹細胞 用於治療巴金森

2010 年，美國加州研究老化的巴克研究所（Buck Institute）的 Xianmin Zeng 教授在《幹細胞（Stem Cells）》雜誌期刊發表成果，指出該團隊成功將人類的皮膚以及血球細胞轉換成「誘導性多功能幹細胞」，用於治療患有巴金森病的大鼠。這項研究中，研究人員先將所製造的人類 iPS 細胞分化成多巴胺神經細胞後，直接移植入巴金森病大鼠的中腦。結果發現，大鼠中腦細胞可以發揮功能，同時可改善大鼠的運動功能。研究人員進一步以 DNA 微陣列（DNA microarray）及聚合酶連鎖反應分析 iPS 細胞分化的多巴胺神經細胞，結果發現此多巴胺神經細胞的基因表現與人類胚胎幹細胞分化的多巴胺神經細胞非常相似。



科學家將人類的皮膚細胞、血球細胞誘導為 iPS 誘導性多功能幹細胞，植入患有巴金森的大鼠及猴子腦中，都成功改善其症狀；在猴子腦中，這些 iPS 細胞發展成的多巴胺細胞更能存活長達兩年。

為了測試 iPS 細胞分化的多巴胺神經細胞的安全性及有效性，及檢驗這種方法是否適用於臨床試驗，京都大學高橋淳（Jun Takahashi）教授的研究團隊進行了一項為期二年的長期研究，以巴金森猴子模式為試驗對象。研究人員將重編程的誘導性多功能幹細胞分化為多巴胺神經元植入這些猴子大腦中，改善其巴金森症狀，同時利用核磁共振攝影（MRI）及正子掃描（PET）來評估獼猴腦中細胞的存活率。結果發現，植入的神經元在腦中存活了近兩年，並且能發揮中腦中多巴胺神經細胞的功能；且實驗期間狀況穩定，沒有產生任何不良反應。

這項研究的關鍵發現，是植入的細胞能在體內至少存活兩年，而且不會產生任何危險的影響，為未來進一步的人體試驗提供了一線希望。高橋淳團隊計畫從健康者身上建立 iPS 細胞組，在藉由免疫細胞生物標誌（immune cell biomarkers, HLA）將其與巴金森患者匹配，以最大限度地減低免疫反應。近日，高橋淳教授接受媒體訪問，表示 2018 年內會向厚生省（如同台灣的衛福部）申請臨床試驗，希望在明年內開始手術，幫助患者擺脫巴金森的困擾。

參考文獻

1. Brundin P, Pogarell O, Hagell P, Piccini P, Widner H, Schrag A, Kupsch A, Crabb L, Odin P, Gustavii B, Björklund A, Brooks DJ, Marsden CD, Oertel WH, Quinn NP, Rehnström S, Lindvall O: Bilateral caudate and putamen grafts of embryonic mesencephalic tissue treated with lazarooids in Parkinson's disease. *Brain* 2000;123 (Pt 7): 1380-1390.
2. Hagell P, Brundin P: Cell survival and clinical outcome following intrastriatal transplantation in Parkinson disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001;60: 741-752.
3. Hauser RA, Freeman TB, Snow BJ, Nauert M, Gauger L, Kordower JH, Olanow CW: Long-term evaluation of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson disease. *Arch Neurol* 1999;56: 179-187.
4. Mendez I, Dagher A, Hong M, Hebb A, Gaudet P, Law A, Weerasinghe S, King D, Desrosiers J, Darvesh S, Acorn T, Robertson H: Enhancement of survival of stored dopaminergic cells and promotion of graft survival by exposure of human fetal nigral tissue to glial cell line-derived neurotrophic factor in patients with Parkinson's disease. Report of two cases and technical considerations. *J Neurosurg* 2000;92: 863-869.
5. Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, Dillon S, Winfield H, Culver S, Trojanowski JQ, Eidelberg D, Fahn S: Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2001;344: 710-719.
6. Olanow CW, Goetz CG, Kordower JH, Stoessl AJ, Sossi V, Brin MF, Shannon KM, Nauert GM, Perl DP, Godbold J, Freeman TB: A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003;54: 403-414.
7. Morizane A, Takahashi J: Cell Therapy for Parkinson's Disease. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2016;56(3):102-9.