



人類胚胎幹細胞

文・圖／陳信孚

幹細胞可分為兩大類。第一類是成體幹細胞：包括間葉幹細胞、臍帶血幹細胞、骨髓幹細胞等。另一類則是具全能或多重分化能力的胚胎幹細胞（embryonic stem cells），以及最近日本Yamanaka團隊所發明出來的誘導式多能幹細胞（iPS cells，又稱「萬能細胞」）。

人類胚胎幹細胞

人類胚胎幹細胞的主要特性是具有持續自我更新與增長數目的能力，因此數目可以無限制增加；另外，人類胚胎幹細胞也具有強大的分化（differentiation）能力，可發育為人體各種細胞；這兩種特性均非成體幹細胞所能比擬。

胚胎幹細胞源自於胚胎，而胚胎來自精子與卵子的結合。按發生順序來說，精卵結合之後成為受精卵，而後發育為胚胎；此後胚胎在母親輸卵管與子宮裏經過6至7天的發育，在子宮著床並持續發育，最後分娩出嬰兒。自從試管嬰兒（即是“體外受精”）技術普遍實施於不孕症治療之後，人類的精卵受精與早期胚胎發育過程已經可以在實驗室的培養皿中進行；不只用來治療不孕症，有餘還可以用於建立人類胚胎幹細胞。事實上胚胎幹細胞技術迄已有多年的歷史，早在1980年代，小鼠胚胎幹細胞即已建立完成，直到今天，C57BL/6與129等品系的小鼠所建立之幹細胞仍經常用於研究，還有大量的科學知識與發現皆源自於小鼠胚胎幹細胞的研發。

人類胚胎幹細胞是在1998年由美國威斯康辛大學的James Thomson團隊首度建立成功，並發表於Nature雜誌。近年來關於人類胚胎幹細胞的研究論文既多且豐富，在在凸顯出其研究的重要性與臨床應用的潛能。

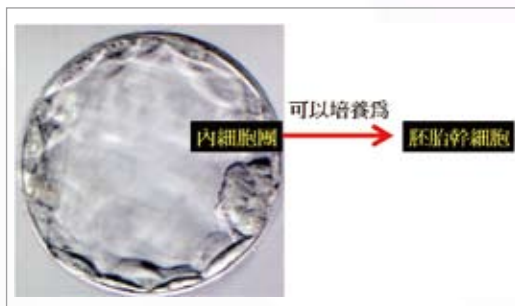
胚胎幹細胞與成體幹細胞的差異

胚胎幹細胞與成體幹細胞有許多共通特性，也各有優缺點，其主要差別在於前者具有較好的細胞增長數目與分化為各種細胞的能力。也就是說胚胎幹細胞可以少數幾個細胞為起點，在適當的培養環境之下，一代接著一代生長不絕，因此理論上胚胎幹細胞可以無限制的增加數目。這一點在臨床治療上具有相當大的優勢，而成體幹細胞增加細胞數目的能力較為受限。

胚胎幹細胞在人體內或體外發育成各式各樣細胞的能力也比較強，所以若是要治療心臟病或糖尿病，則可將胚胎幹細胞培育為心臟細胞或胰臟細胞。而成體幹細胞較欠缺多重分化能力，且細胞種類也受限，如胚胎幹細胞可以發育為生殖細胞，但成體幹細胞幾乎不可能。此外，胚胎幹細胞具有容易執行基因轉殖技術的優點，因此成為實驗室非常重要的研究素材。不過優點也會是缺點，例如未分化的胚胎幹細胞植入動物或人體內有形成腫瘤之疑慮，且由於其分化能力過強，要有效控制其發育為特定的目標細胞並不容易，而免疫排斥也是問題之一。

人類胚胎幹細胞的建立

人類胚胎幹細胞於1998年首次成功建立。當不孕夫婦有多餘不用的胚胎並同意捐出作為醫學研究時，研究人員即將其培育為囊胚（blastocyst），並由囊胚的內細胞團建立人類胚胎幹細胞。研究人員先置於培養皿中培養5至6天，使之形成囊胚（圖1）。囊胚裏有一團細胞稱為內細胞團，具有多重細胞分化的能力，這一團細胞在母體內即可發育成



圖一：囊胚 (第5至6天的人類胚胎)。
由內細胞團來建立胚胎幹細胞。



圖2：臺大醫院團隊所建立之人類胚胎幹細胞株NTU1。
(1) 低倍率；(2) 高倍率。

完整的胎兒。將其萃取出，在培養皿中培養，能持續快速增加數目而形成人類胚胎幹細胞。這樣的幹細胞可以每5至7天繼代一次，使其維持在不分化的狀態，不斷更新與增加數目。而必要時，研究人員就可開始改變培養環境，使原來不分化之胚胎幹細胞開始分化為各式各樣治療疾病所需要的細胞，以作為醫學研究或移植治療之用。

臺大醫院的幹細胞團隊於2004年已建立3株人類胚胎幹細胞 (圖2) (NTU1, NTU2, NTU3)，

並於2007年發表於《人類生殖雜誌》 (Human Reproduction)，並獲選為該期封面 (圖3)。這三株本土之人類胚胎幹細胞染色體分別為46,XX、46,XX和46,XY (兩株女性、一株男性)，都具有典型的人類胚胎幹細胞該有的各種特性，藉由這三株細胞已發展出一系列研究。

目前全世界對於新的人類胚胎幹細胞株的建立目標著重於：(一) 以減少或不需破壞胚胎之方式 (embryo-friendly) 來建立胚胎幹細胞。

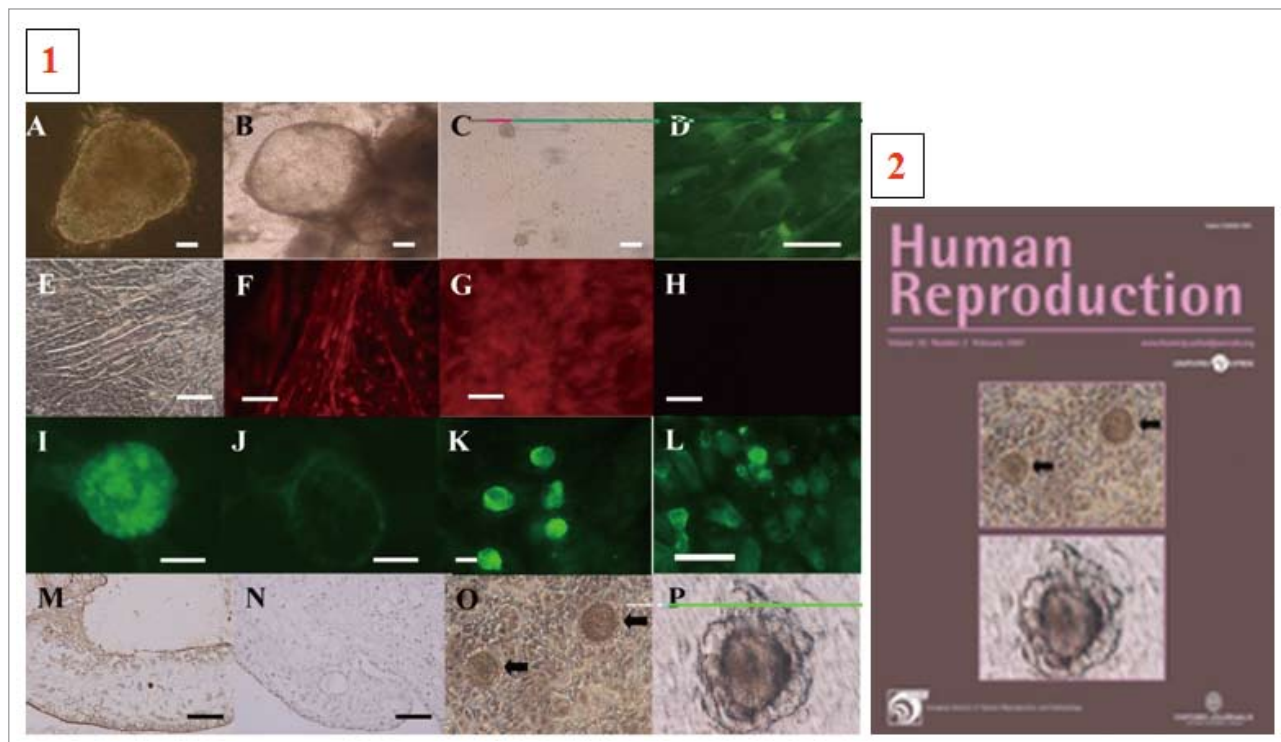


圖3：(1) 論文中的圖片顯示類似卵泡的構造；
(2) 論文中的圖片登上醫學雜誌封面 (取材自 Chen HF et al. Hum Reprod 2007;22:567-577)。



研究發展～幹細胞

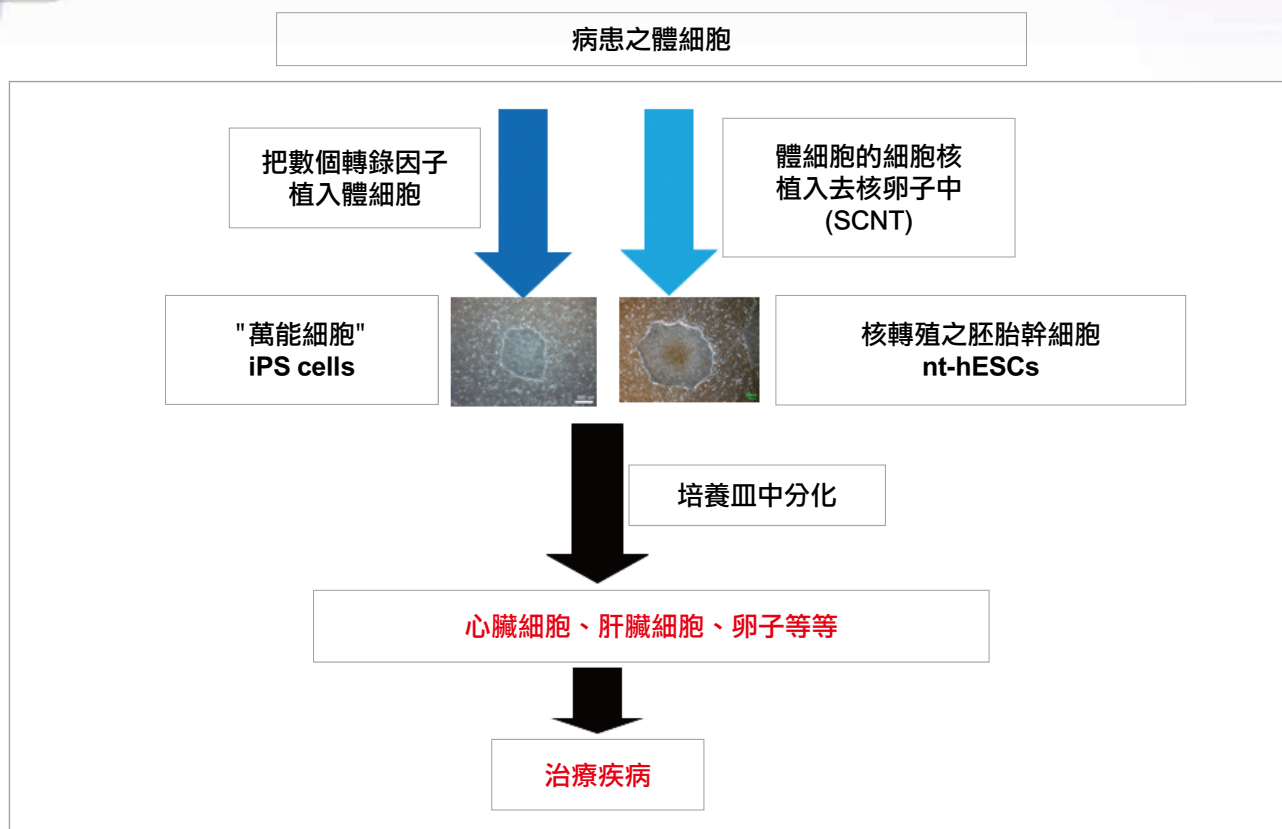


圖4：量身訂做之幹細胞。

Klimanskaya的團隊於2006年Nature雜誌發表的方法，係使用胚胎切片之技術（註：著床前基因診斷【PGD】技術的一部分），從第三天的胚胎以顯微操作技術取出一或二個胚葉細胞，然後把胚葉細胞與已建立之胚胎幹細胞共同培養，得到新的細胞株，而原來切片過的胚胎仍可持續發育不至於被破壞。（二）科學家也成功的結合前述胚胎切片技術，先確認胚胎健康狀況（例如確認胚胎是否具有海洋性貧血的基因型），如果正常則可植入母體子宮；如果不正常，則此疾病胚胎可用於建立特殊疾病之胚胎幹細胞株（diseased cell line），成為一種疾病的研究模式。（三）科學家也致力於建立量身訂做之胚胎幹細胞株，也就是把病患之體細胞核與捐贈卵子之細胞質結合，以形成與病患DNA大體相似之複製胚胎，這種技術稱為「體細胞核轉殖技術」（somatic cell nuclear transfer; SCNT）（圖4）。這種複製胚胎可以進一步形成個人獨有之複製胚胎幹細胞株，將之用

於病患來治療疾病時就不會產生排斥。目前這種技術在人類並未成功，且由於「萬能細胞」（iPS cells）的發明，這方面的研究也有退燒的跡象。

人類胚胎幹細胞的用途

目前人類胚胎幹細胞的主要用途至少有三：

（一）建立細胞培養的平台來測試毒物或藥物。例如，在培養皿中把人類胚胎幹細胞培育成肝臟細胞，然後加入治療肝病的藥物測試其對促進肝細胞修護的能力，或加入某些可能的毒素於細胞培養中，測試毒素對肝臟細胞的毒性強弱。這在生物科技、特別是新藥科技上具有極大的價值。藉由這樣的技術，可減少使用轉殖老鼠，而藥物與毒物的測試費用也會隨之降低。（二）把胚胎幹細胞培養為肝臟細胞、生殖細胞或其他任何細胞的過程中，可以學習到許多過去未知的人類胚胎生物學知識，對於人類知識的促進明顯具有重大意義。（三）胚胎幹細胞的第三項用途，也是

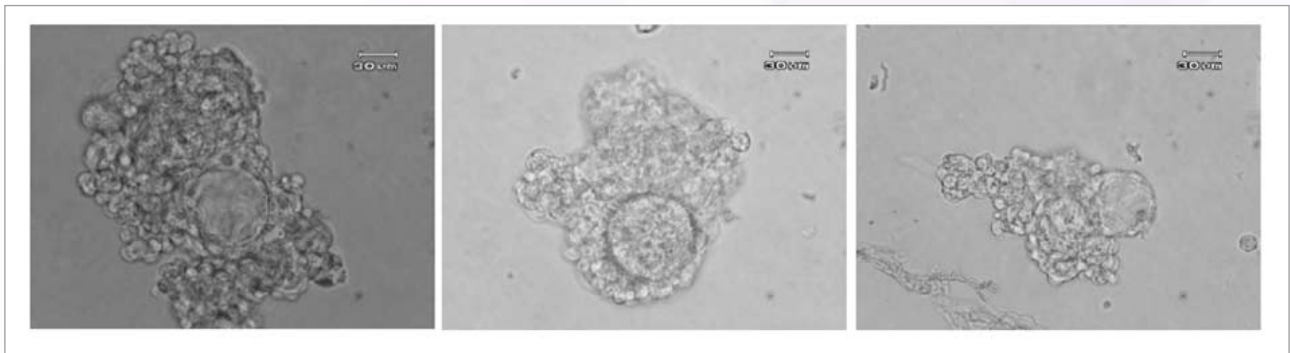


圖5：幹細胞分化為類似卵泡的構造。

大家最有興趣的潛能是：產物可作為細胞移植治療的重要素材。例如把胚胎幹細胞培育成心臟細胞，將來可移植到病患以治療心臟病（圖4）。又例如，把胚胎幹細胞培育為卵子，以便治療因缺乏卵子而無法生育的不孕症患者。理論上潛能相當可觀，但仍有許多障礙有待克服，包括如何有效培育胚胎幹細胞為適合移植之細胞、如何純化細胞、如何移植入人體內、如何避免腫瘤形成、如何避免排斥等等。不過第一件人類胚胎幹細胞的臨床試驗已於2009年初在美國開始執行了。目前我們實驗室則是延續過去的研究主軸，與中研院合作探討由胚胎幹細胞來培育卵子，期在生殖醫學領域上有所著墨（圖5）。

人類胚胎幹細胞與「萬能細胞」

目前除了前述的體細胞核轉殖技術所得之複製胚胎幹細胞外，最近3至4年幹細胞界最大的突破之一就是「萬能細胞」（iPS cells）的發明，這種「萬能細胞」可以由患者身上的體細胞（例如皮膚細胞）為起點，在實驗室中鑲入數個轉錄因子之後，發育形成類似人類胚胎幹細胞的幹細胞，同樣具有強大的增生與分化功能（圖4）。「萬能細胞」之DNA基本上與患者本身是一樣的，因此可以說是量身訂做。既然人類胚胎幹細胞與「萬能細胞」都可以長期不停的自我更新，

且具有分化成所有細胞的能力，因此都有極大潛能成為移植治療之細胞來源。最近我們與中研院郭紘志博士的團隊也使用卵巢顆粒細胞成功建立

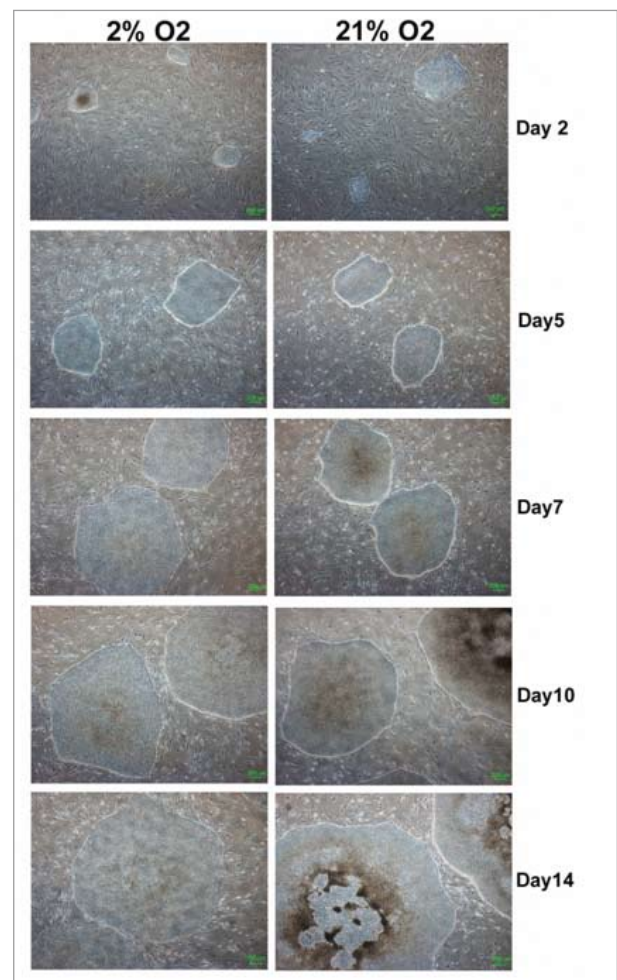


圖6：低氧氣濃度培養人類胚胎幹細胞的型態比較。



研究發展～幹細胞

人類iPS細胞，目前正持續比較這兩類細胞之生物特性與其免疫原性（immunogenicity），以利將來應用於臨床。另外，我們也正在研究如何更為有效的培養人類胚胎幹細胞與iPS細胞，例如使用低氧氣濃度（2-5%氧氣濃度）的環境來培養時，發現幹細胞的型態變得更好，可以長期維持未分化狀態（圖6）；而進一步使其分化時，形成類胚體（embryoid body）的效率也更好、形態更漂亮，其基因表現的形式與正常氧氣濃度之下培養並不相同。這方面的研究正在持續進行當中。

結語

人類胚胎幹細胞與特性相類似的「萬能細胞」的建立，已經開啟了幹細胞治療人類疾病的一扇大門。雖然令人興奮，但要實際應用於臨床醫學則還有一大段艱辛的路要走。令人欣慰的是，過去在胚胎幹細胞與「萬能細胞」的研究已非常豐富，有充分證據顯示胚胎幹細胞或「萬能細胞」具有相當潛力可在臨床醫學上發揮一定的角色，現在就讓我們持續研發並期待這一天的到來。圖（本專題策畫／婦產部黃思誠教授&臨床基因研究所陳信孚副教授）

References :

- [1] **Chen HF**, Kuo HC, Chien CL, Shun CT, Yao YL, IP PL, Chuang CY, Wang CC, Yang YS, Ho HN. Derivation, characterization and differentiation of human embryonic stem cells: comparing serum-containing versus serum-free media and evidences of germ cell differentiation. Hum Reprod 2007;22(2):567-577.
- [2] **Chen HF**, Kuo HC, Chen W, Wu FC, Yang YS, Ho HN. Low oxygen tension (5%) is not beneficial for maintaining human embryonic stem cells in undifferentiated state in routine culture with short splitting intervals. Hum Reprod 2009;24(1):71-80.
- [3] **Chen HF**, Chuang CY, Shieh YK, Chang CW, Ho HN, Kuo HC. Novel autogeneic feeders derived from human embryonic stem cells (hESCs) support undifferentiation of hESCs in xeno-free culture conditions Hum Reprod 2009;24(5):1114-1125.
- [4] **Chen HF**, Kuo HC, Lin SP, Chien CL, Chiang MS, Ho HN. Hypoxic culture maintains self-renewal and enhances the in vitro differentiation of human embryonic stem cells (2010, Tissue Engineering, in revision).



陳信孚小檔案

1986年自臺灣大學醫學系畢業後，進入臺大婦產部服務，現任婦產部主治醫師及醫學院臨床基因醫學研究所/臨床醫學研究所副教授，並擔任臺灣生殖醫學會副理事長、臺灣幹細胞醫學會理事等職。1996至1997年間赴加拿大英屬哥倫比亞大學（University of British Columbia）婦產科研究；1998年於巴黎大學附屬醫院進行生殖內分泌與不孕症見習；2002年中至澳洲墨爾本大學（Martin Pera Lab）進行人類胚胎幹細胞研究觀摩。專攻生殖醫學相關研究，包括卵巢與胚胎之發育及基因表現與人類胚胎幹細胞之研究。主要臨床工作為生殖內分泌與不孕症（人工生殖與試管嬰兒）之治療。