

知識天地

體細胞重新編程的技術開發與應用

吳瑞仁博士候選人(陽明大學)、沈家寧副研究員(基因體研究中心)

電影〈索命條碼Repo men〉中描述著在未來世界裡，人類身上的器官就像是汽車上的零件一般，一旦受傷或是損壞時，可以隨時做更換以維持正常的生理機能；而在現實生活當中，器官移植的確能夠幫助病患延續生命及改善生活品質，然而器官移植面臨的最大難題是能夠提供的器官“絕對缺乏”，受限於捐贈器官的來源，並且要考慮到免疫排斥的問題，無形之中提高了進行器官移植的難度；而器官捐贈的人數遠遠不足，這使得許多需要移植器官的患者在等待的過程失去生命，此外即使移植成功，由於不是本人的臟器，患者必須不斷服用具有副作用的免疫抑制劑，以控制排斥反應。科學家們為了解決這樣的問題，不斷的尋求新的移植組織及細胞來源，例如，幹細胞(stem cells)因為能夠自我更新，並且具有分化成為各式各樣細胞的潛力，因此具有可應用修復人類受損的組織和治療棘手的退化性疾病的潛力。但在促進組織再生時，除了考慮在組織損害時是否伴隨幹細胞損失，還必須要先了解控制幹細胞自我更新及分化的機轉，例如，如何給予適當處理或刺激，可以激活幹細胞進行分化；此外，如果不能採用患者本身的細胞，只能採用來自別人的細胞時，就得想辦法克服免疫排斥反應或通過遺傳基因重組去除細胞的抗原性。

體細胞重新編程

在胚胎發育過程，胚胎細胞透過增生及分化(differentiation)，最後發育各種器官組織，形成一個完整的個體，而個體組織細胞在分化之後，接著會面臨老化，最終都難逃死亡的命運，但最近發現在大西洋的燈塔水母(Turritopsis nutricula)可以長生不老。燈塔水母在達到性成熟階段之後，又會重新回到年輕階段，開始另一次生命週期，而這種返老還童的循環會持續不斷。燈塔水母究竟是如何逆轉老化過程的？這是海洋生物學家和遺傳學家正在研究的重點課題。基本上科學家們推測，燈塔水母“返老還童”是透過體細胞重新編程(somatic cell reprogramming)，使得細胞轉分化(transdifferentiation)進入返老還童的循環。此外，在兩棲類動物水蜥，當眼球水晶體被摘除後，牠們的虹膜色素上皮細胞能轉分化為水晶體上皮細胞來修補移除的水晶體。甚至，在一些胃炎或胃潰瘍的病人，其胃部常會發現一種小腸化生(intestinal metaplasia)的症狀，也就是部份胃細胞轉變成為小腸細胞，這其實就是體細胞重新編程所造成的結果。

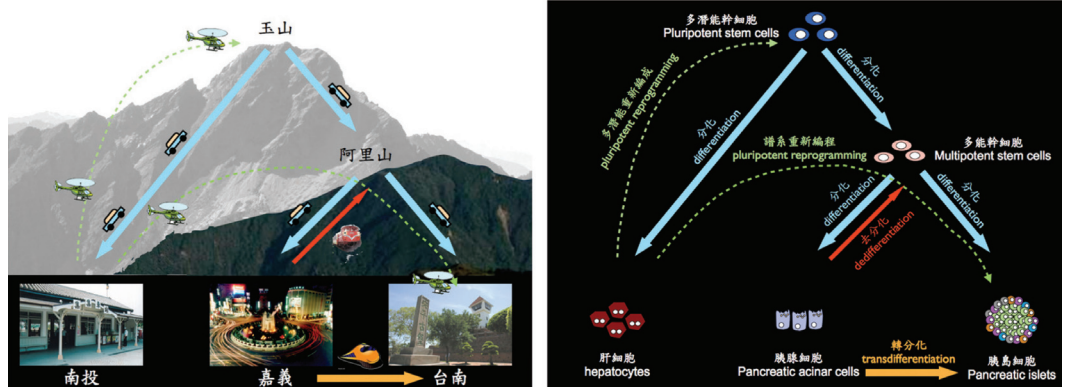
這些現象告訴我們如果控制細胞狀態的基因發生改變，可能會使體細胞轉分化為另一類細胞。而最近的研究指出如果控制細胞狀態的特定轉錄因子發生改變，可能會使體細胞的轉分化為另一類特定的組織細胞，甚至是幹細胞。在5年前，日本京都大學山中伸彌教授(Shinya Yamanaka)開始篩選調控早期胚胎發育的因子的研究中發現，將Oct4、Sox2、Klf4、以及c-Myc等四種基因，藉由反轉錄病毒同時表現在皮膚纖維母細胞內，就可以將細胞逆轉成為具有多潛能分化特性的細胞，他將這種細胞命名為「誘導式萬能幹細胞(induced pluripotent stem cells)」。最近在多國科學家的延續研究中，證實了多種體細胞皆可以被重新編程，包括皮膚細胞、胃細胞、血液細胞、肝臟細胞等，這顯示並非特定細胞才能夠重新編程。而最近發現體細胞可轉分化為特定組織細胞，例如九州大學鈴木淳史教授(Atsushi Suzuki)證明皮膚纖維母細胞表達HNF4及Foxa2兩種特定的轉錄因子，就能轉分化為肝臟細胞。

在目前器官捐贈者有限以及醫療技術限制的情況下，透過體細胞重新編程、將患者體細胞轉分化為目標細胞、或將患者體細胞重新編程為幹細胞的技術，無疑是再生醫學領域的重大突破，預期可以應用在很多疾病的治療上，特別是帕金森氏症、脊髓損傷、以及糖尿病等棘手的疾病，除了克服了胚胎幹細胞的使用會面臨許多倫理爭議外，移植至病人體內所造成的排斥反應問題，也能迎刃而解。但是幹細胞的分化調節極為複雜，特別是誘導式萬能幹細胞分化難以控制，在移植到小鼠的皮下組織仍會導致腫瘤的產生，因此這些技術要實際應用在疾病的治療仍有待研發。在體細胞重新編程的過程，是否能一方面限縮其分化潛能，一方面增強其安全及可調控性，是目前科學家們積極嘗試解決的目標。

透過誘發胰腺細胞重新編程產生多能性類幹細胞

胚胎細胞在發育的過程中，彷彿就像駕駛一輛汽車在單行道上，可以選擇停在原處(自我更新(self-renewal))、

由十字路口左轉或是右轉(決定細胞命運(cell fate determination))、或是繼續前進(分化)，而完整分化後的體細胞在正常情況下，並不會再改變其特性及功能。科學家們為了製造可供移植的標的細胞，就像不斷更改這輛汽車行進方向的各種可能性，例如透過跳躍、轉進或迴旋的方式抵達特定目標(圖一)。換言之，科學家們嘗試著是否可以將



圖一、胚胎細胞在發育的過程中，就像駕駛一輛汽車從玉山沿著阿里山一路開下山，可以選擇停在阿里山頭(自我更新)、左轉或是右轉前往嘉義或台南(分化)，抵達終點後就停止，就好像完整分化後的體細胞在正常情況下，並不會再改變其特性及功能；科學家們為了製造可供移植的標的細胞，就像不斷更改行進的各種方向，例如從嘉義到台南可搭登山火車先上阿里山再到台南(就如胰腺細胞去分化，先產生多能幹細胞，然後再分化為胰島細胞)；或者搭高鐵直接到台南(就如胰腺細胞轉分化為胰島細胞)；而從南投可搭直升機繞過玉山到台南(就如肝細胞可透過多潛能重新編程先產生萬能幹細胞，然後再分化為胰島細胞)；或直接穿越到台南(就如胰腺細胞透過譜系重新編程為胰島細胞)

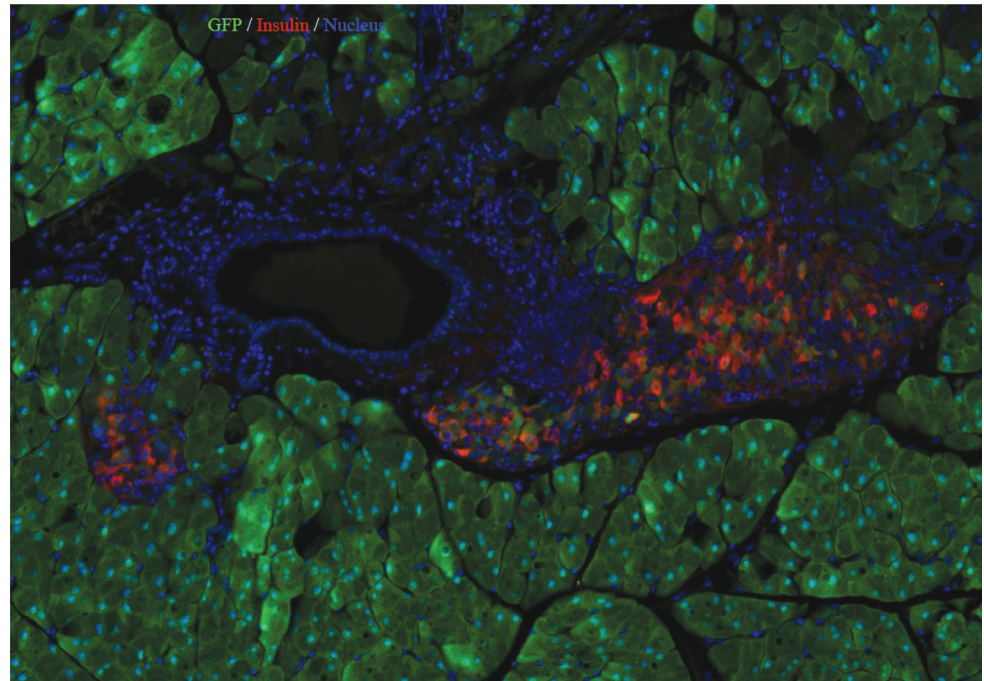
其他體細胞經由去分化後再分化(dedifferentiation and redifferentiation) 或是轉分化等不同的方式轉變成病患所需要的特定細胞。體細胞重新編程的可行性在最近陸續發表的研究成果中展現出來，但是，科學家們更好奇的是在體細胞重新編程的過程中發生了什麼事？已分化細胞是沿著原路回去？或是走另一條路直達起點(例如，誘導式萬能幹細胞)或是直達另一個終點(轉分化)？假設是沿著原路回去的話，那這過程中是否出現所謂的組織幹細胞或前驅細胞(tissue stem/progenitor cells)？

事實上，二十年前科學家就發現胰臟受損或癌化時，部份胰腺細胞會透過體細胞重新編程，轉分化產生肝細胞在胰臟內，但是並不明瞭其機轉。為了回答這樣的問題，我們透過流式細胞儀的分析，仔細觀察胰肝轉分化的過程中細胞特性的改變。在胰肝轉分化的過程中，找到一群表現ABC2的“側族群細胞(side-population cells)”，而已知在不同成體組織中的側族群細胞就是成體組織內的幹細胞，例如從骨髓分離出來的側族群細胞就有血液幹細胞的存在。我們深入分析這群細胞，發現相較於非側族群細胞，這群細胞會表現幹細胞或前驅細胞的相關基因；為了更進一步確認該群細胞是否具有幹細胞的特性及多重分化潛能，並驗證是否胰肝轉分化先誘發胰腺細胞再程式化產生多能性類幹細胞後，才能分化成肝細胞？我們建立誘導式特定點重組追蹤系統的Elas-CreER;Z/EG基因轉殖小鼠進行實驗，證實當選擇表達綠色螢光但不表現ABC2的成熟胰腺細胞進行轉分化實驗，這些細胞逐漸開始產生表現綠色螢光側族群細胞，也會漸漸分化成肝細胞；而我們透過流式細胞儀的分選，將該群細胞分離出來後，利用不同的分化步驟處理，發現該群細胞的確在不同的誘導條件下，不僅可分別分化成肝細胞或是胰島β細胞，也可以再分化成為胰腺細胞。這樣的結果顯示出，在哺乳動物已分化的組織細胞可能也像無脊椎或低等脊椎動物一樣，具有可以重新回到前驅細胞的狀態以修補受損組織的能力。

糖尿病是現代社會中常見的慢性代謝疾病，全世界有超過3億的人罹患糖尿病，其致病原因之一為胰島數目不足或功能失調而無法正常的調控體內血糖濃度，進而延伸出許多併發症，雖然胰島移植仍是目前被公認最好的治療方式，然而目前胰島的來源極端缺乏，因此如果找出特定方式重新編程患者自體胰腺細胞為胰島細胞(圖二)，那將有助於改善胰島數目不足或功能失調的問題並克服目前胰島移植治療所遇到的瓶頸。人類有兩百多種類型的細胞，每種細胞都有特化的功能，除了利用「不易獲得及調控」的幹細胞來開發治療方式以修復受損組織外，我們的研究開啟了另一項可行的替代方案，就是利用身體已特化存在的健康體細胞進行轉化，來取代受損或死亡的組織細胞。

參考文獻

1. 沈家寧等 淺談幹細胞科技
五南圖書公司(出版中)
2. 沈家寧、陳志龍 2010. 體
細胞重新編程技術與應用
前景 中榮醫訊 142: 9-11.
3. Wu, S.Y., C.C. Hsieh,
R.R. Wu, J. Susanto, T.T.
Liu, C.R. Shen, Y. Chen,
I.F. Cheng, C.C. Su, F.P.
Chang, H.M. Chang, D.
Tosh, and C.N. Shen* 2010.
Differentiation of pancreatic
acinar cells to hepatocytes
requires an intermediate
cell type. *Gastroenterology*
138:2519-2530.



圖二、利用誘導式特定點重組追蹤系統的Elas-CreER;Z/EG基因轉殖小鼠，首先以誘導胰腺細胞表現綠色螢光蛋白，再進行糖尿病小鼠胰島損傷修補實驗，觀察到部分被綠色螢光蛋白標定的胰腺細胞(綠色細胞)，可透過重新編程轉分化為形成新的胰島細胞(圖中同時表達綠色及紅色的細胞群)(紅色細胞為胰島細胞，藍色為細胞核)