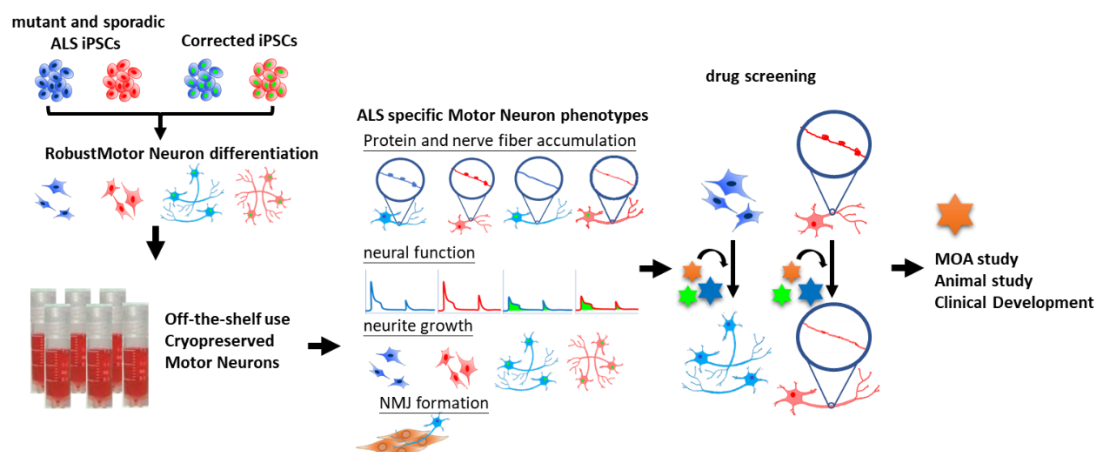


由人類多潛能幹細胞高效率產製可立即使用於疾病模型的冷凍運動神經元 Robust Generation of Ready-to-Use Cryopreserved Motor Neurons from Human Pluripotent Stem Cells for Disease Modeling

Hsiao-Chien Ting (丁筱茜, 佛教慈濟醫療財團法人創新研發中心), Hong-Lin Su (蘇鴻麟, 國立中興大學生命科學系), Mei-Fang Chen (陳美芳, 花蓮慈濟醫院醫學研究部), Horng-Jyh Harn (韓鴻志, 花蓮慈濟醫院病理科), Shinn-Zong Lin (林欣榮, 花蓮慈濟醫院神經外科), Tzyy-Wen Chiou (邱紫文, 國立東華大學生命科學系), Chia-Yu Chang* (張嘉佑, 佛教慈濟醫療財團法人創新研發中心)



【背景】運動神經元疾病(motor neuron disease)為原因不明且目前尚無有效治療方法的嚴重疾病。患者大多在數年內惡化至無法自主生活最終過世。為了加速藥物開發,由病患體細胞衍生而來的運動神經元(motor neuron)為精準藥物篩選(precise drug screening)所必須。多潛能幹細胞(pluripotent stem cell)可由早期胚胎取得或體細胞再編程(reprogrammed)產生,並擁有自我複製(self-renew)與多潛能分化潛力(pluripotency),可分化為成體各種細胞並做為體外疾病模型之來源。然而,目前運動神經元的產製效率與疾病專一病徵的表現穩定度仍有限,且尚無成熟運動神經元的保存方法。因此大幅限制了此幹細胞科技應用於運動神經元疾病大規模藥物篩選的潛力。

【結果】在本研究中,我們建立一套名為 CHSF-MN 的分化方法,可誘導超過 7 株人類多潛能幹細胞於 25 天內分化為超過 90%的 HB9+運動神經元。並且我們開發了懸浮球體冷凍法以高效率冷凍分化第 32 天的近成熟(pre-mature)運動神經元,此方法解凍後可達到 90%的解凍存活率與 89%的運動神經元專一蛋白 Islet1 以及 ChAT 表現。此近成熟運動神經元,可在解凍後 4 天內,表現典型神經電生理功能,並在與小鼠成肌細胞(myoblast)共培養 6 天後,產生類神經肌肉連接(neuromuscular junction)構造並誘導成肌細胞收縮。我們也在解凍的肌萎縮側索硬化症(漸凍症; Amyotrophic lateral sclerosis)運動神經元中發現專一致病蛋白的分布異常(redistribution)與堆積(accumulation)。

【未來影響與應用】本研究為首次發表由多潛能幹細胞高效率產製可直接使用的運動神經元凍管,並在解凍後數天內表現運動神經元功能與 ALS 專一病徵。將有利於穩定模型病徵表現,大幅降低技術門檻、產製成本與人力需求,使其可真正應用於大量藥物篩選,促進疾病藥物開發。