

NASA微重力培養系統展望工程組織的研究發展

Synthecon公司于1990年創立，創立者為 NASA 細胞研究計畫中的發明人。得到 NASA 的專利和技術轉移，設計了適用於基礎醫學、藥物研發和其他臨床研究的微重力培養系統 Rotary Cell Culture System (RCCS)，其利用將培養液、細胞或組織一起加入培養盤(或培養管柱)中，並去除所有氣泡，安裝於具旋轉馬達之基座上，讓內部組織、細胞或細胞團塊因旋轉切線力量及重力雙重影響下而保持懸浮狀態。

傳統靜態細胞培養是在培養瓶(或培養皿)中進行，無論是細胞或組織均生長在二維平面空間並接觸玻璃或塑膠表面。這樣的方式會影響細胞中基因的表達且無法持續生長及分化，使細胞逐漸失去其來源組織的許多生理特徵。而大部分動態培養系統中，細胞或組織是有物理的外力而懸浮的，有許多包括液態剪切力在內的因素會導致細胞及組織損傷。RCCS 培養盤(或培養管柱)背側均具備矽膠製成的換氣膜以利進行氣體交換，使細胞/組織得到充分氧氣及排除代謝後的廢氣，旋轉有助於讓所有細胞均勻交換養分和氣體，並且讓細胞間因微重力狀態可有足夠的接觸，有利於細胞聚集。隨著細胞或組織成長，旋轉速度可做調整，細胞形成團塊之後，必須提高轉速使其不會沉降而碰觸底部。故組織在培養液中得以自由降落、翻轉並與培養液充分混合，其容器內各方向的力量達到平衡，所以細胞/組織不會受到單一方向的力量影響，可朝任意方向均勻生長。



圖1. Rotary Cell Culture System (RCCS) 培養盤系統，包含旋轉馬達與其基座，有許多不同規格，最多可同時獨立控制8個培養盤的轉速。

其中一項工程組織的應用便是2019年所發表，使用RCCS培養人類多能幹細胞 (Human Pluripotent Stem Cells, hPSCs) 衍生的類器官，包括了內耳發育的各個階段及毛細胞群(Hair cells) 的生長。由於毛細胞專門負責調節內耳的平衡和聽力，此外，在哺乳動物中，毛細胞數量有限並且不會再生。這些結果表明，hPSC 衍生的類器官可以產生複雜的內耳結構特徵，並成為研究內耳發育的資源 (2019. Mattei C. *et al.* FCDB. Vol (7):1-12)。而近幾年著重發展的細胞治療領域方面，也適合以RCCS 搭配 microcarrier 進行間質幹細胞培養測試。2019年的研究即表明，參與早期軟骨分化誘導的重要信號蛋白 Sonic hedgehog (Shh) 在微重力條件下，Sox9、Aggrecan (ACAN) 及 Collagen II 的表現更高，體內移植後，組織學分析顯示 Shh 轉染組的軟骨修復 (Cartilage and Subchondral Repair) 有顯著改善，顯著誘導兔骨髓間質細胞(BM-MS)的軟骨形成，可促進軟骨再生，改善軟骨和軟骨下缺損的早期修復 (2019. Chen L. *et al.* BMC Developmental Biology Vol (19):18)；2021年發表的研究另指出，RCCS 在196小時內以36 rpm/min 顯著促進了臍帶來源幹細胞(UC-MS)的 Exosomes 產生，同時發現其帶有的 LncRNA H19 在體外促進軟骨細胞增殖和基質合成，並抑制細胞凋亡，在動物實驗中能夠減輕軟骨修復早期的疼痛水平(2021 Yan L. *et al.* JOT. Vol (26):111–120)。

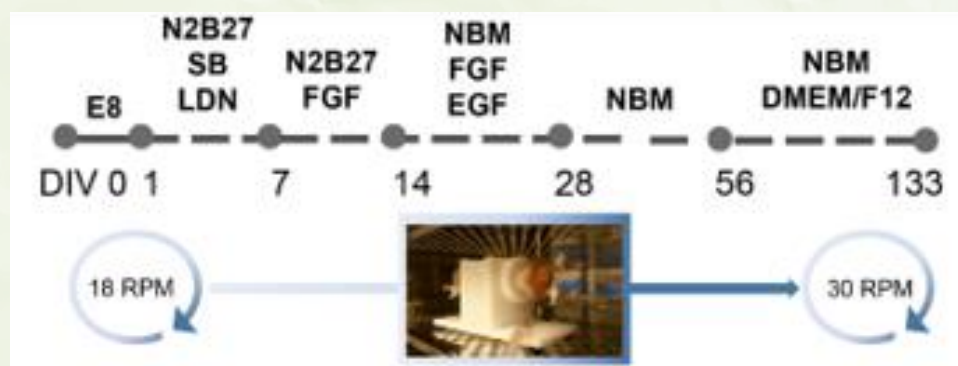


圖2. 使用 RCCS 生成內耳類器官培養條件示意圖

RCCS 的微重力培養有助於細胞聚集形成組織團塊，除了上述直接應用於工程組織研究、Exosomes 生成之外，也可應用於藥物動力學測試、微生物與細胞共培養等層面。另一大優勢是，直接拆除培養盤(或培養管柱)，可輕而易舉獲得細胞(或組織)團塊，有利於後續分析，從而真正用來進行工程組織 (Engineered Tissue) 的培養與研究。