新 時 代 婦 產 科

文／陳祈安

壹、婦科發展趨勢

子宮頸癌、子宮體癌、卵巢癌一直是台灣婦女癌症中占前十名的癌症，也一直是婦科研究與治療發展的一個目標。台灣自1995年起展開全面子宮頸抹片篩檢，子宮頸癌之發生率已經降了一半，取而代之的為子宮體癌〈主要為子宮內膜癌〉。近年來影像學與手術分期已成為治療的一個趨勢，但不可諱言的是傳統的分期方式無法完全反映到病人的預後，目前研究的方向偏重於分子生物學，除了可探究腫瘤的發生、進展與預後的相關性，結果也可運用來做後續標靶治療之研究。除此之外癌症中免疫系統之調控是近年來一個相當熱門的項目，而癌症之免疫治療也是一個研究的方向。

微創手術之歷史雖然很久，但真正蓬勃發展要到1980年代後期，主要是跟隨著video camera的研發，讓不只手術醫師、助手、學生等都可以同時觀察到手術之進行與詳細之解剖構造，而病患也可減少術後的疼痛與傷口美觀的好處。近年來的達文西機械臂手術由於給付可以跳脫健保範圍，又可招攬病患，在台灣已成各醫院間的軍備競爭，達文西機械臂的裝機密度已經變成全世界最高，是一個值得省思的問題。

貳、近代產科發展

臺大優生保健諮詢中心於1983年成立，在1987年由政府補助成立優生保健部，2006年再擴大為基因醫學部，初期為婦產科之羊水染色體檢驗與小兒科之新生兒篩檢與遺傳諮詢，後續有海洋性貧血與一些遺傳疾病之產前診斷。近年來由於微陣列晶片之發展與次世代基因定序之研發，可以短時間一次檢測多個基因之變異，對產前基因診斷之助益很大。但無疑的，很多檢驗其實沒有經過很嚴謹的臨床試驗就被推到商業化了，處於醫學中心在這方面如何拿捏是一個值得深思的問題。

產前超音波檢查一直是本科的強項，對植入性胎盤之診斷與治療已經由施景中醫師做好相關的標準作業流程，也因此本院也收治最多的植入性胎盤的病患。

參、不孕症

本院為台灣最大的生殖醫學中心，成功率也屬世界一流，也常有外院與國外醫師、醫事人員來進修，近年來的一些進展，包括胚胎幹細胞的研究、胚胎植入前的基因診斷等都有持續的進展，如何兼具臨床研究與醫學倫理之規範更是我們重視的課題。

（作者係母校醫學系1979年畢業，現任母校婦產科主任）

幹細胞於生殖醫學之發展及應用

文／陳信孚

引言

幹細胞是很有用的細胞，可以用於研究與治療疾病，其中尤其是幹細胞治療是大家所熱切期待的新的治療模式。幹細胞大體上可分為多能性幹細胞（pluripotent stem cells）、例如胚胎幹細胞（Embryonic stem cells; ES細胞）與誘導型多能幹細胞（iPS細胞），以及成體幹細胞（adult stem cells）。今天要談的是多能幹細胞。其中胚胎幹細胞的來源是人類的囊胚；卵子排出卵巢之後與精子受精會形成胚胎，然後胚胎逐漸發育到第5天或第6天就可以達到囊胚（blastocyst）的階段。自從試管嬰兒執行以來，我們可以在體外觀察囊胚的發育，而胚胎幹細胞就是把囊胚裡面的內細胞團（inner cell mass）取出以後培養成胚胎幹細胞。另一種多能幹細胞是iPS細胞，這種細胞是在2006年由日本學者所發展出來；iPS細胞的來源是把體細胞（somatic cells）轉入轉殖基因包括Oct4，Sox2，Klf4，c-Myc等使之再程序化，然後培養發展成為iPS細胞。iPS細胞與人類胚胎幹細胞在形態與功能上相似。在臺大醫院，我與何弘能教授已經建立4株人類胚胎幹細胞（NTU1~NTU4）；同時也建立了好幾株iPS細胞，包括iPOF-14等等。

胚胎幹細胞與iPS細胞到底在生殖醫學上會扮演甚麼角色？從臨床角度來看，全世界數據顯示使用自己的卵子來執行試管嬰兒的活產率隨著婦女的年齡越大，則越來越低；在30歲左右活產率可達4成以上，但是到了40歲以後大概只剩下十幾%。但是當我們使用捐贈的年輕卵子來執行試管嬰兒時，就算是植入50歲以上的婦女，通常還是可以達到相當好的活產率，這其中最重要原因就是卵子的品質與數目之差異。我們知道最近國內的趨勢是婦女結婚的年齡比較晚，嘗試懷孕的年齡也就延後，因此婦女的卵子數目少、品質也弱，活產率就會比較差。甚至於有一些婦女40歲以前就自然停經，稱為卵巢早發衰竭（POF），也有同樣生育問題。因此我們一直期待能否研究出好方法讓婦女的生育年齡再延後。所以生殖醫學面臨的最大困難因素可說是：第一，婦女尋求不孕症的治療年紀太大；在臺大醫院多年前執行試管嬰兒的婦女平均年齡大約33歲，但是最近都已經37~38歲。第二就是剛才提到的卵巢早發衰竭的病人能夠懷孕的年齡期相對比較短，所以病患如果又比較晚婚，很有可能就遇到完全無法懷孕的情形，因此顯然需要更好的方法

來解決這些年紀比較大或POF患者卵巢卵子存量問題。實際例子是有一位病患在30歲就停經而被診斷為卵巢提早衰竭，這位婦女到32歲的時候結婚而希望生育子女。在這種情況之下她的選擇包括可以領養小孩、或靠捐卵來執行試管嬰兒。但是這些步驟也不是那麼簡單，尤其需要別人很多協助，包括卵子來源。因此先不論倫理道德層爭議，我們是不是可以把幹細胞培育成卵子來協助這些婦女？而就算不是真的把這些卵子用在病人身上，事實上從幹細胞培育成卵子的過程中，已經可以學到很多科學知識，也可以藉此細胞模式找到許多可能有用的藥物來幫助病患。在這種思考之下，我們的團隊就很想要研究如何把幹細胞發育成為生殖細胞相關的細胞，包括卵子與卵巢顆粒細胞（granulosa cell）等。第二步希望從生殖疾病之病患身上得到體細胞來建立其特有的iPS細胞，譬如從POF婦女的體細胞轉化成iPS cells，然後再把這種病患特殊的iPS cells培育成生殖細胞與顆粒細胞。從結合病人的體細胞轉化成iPS細胞，再把幹細胞發育成生殖細胞的技術，將會對我們的研究以及對生殖醫學之臨床應用會有很大的幫忙。

幹細胞分化成類似卵巢的卵泡構造

就上述思考，我與何弘能教授的團隊已於2007年刊登了論文報導當時所建立的3株胚胎幹細胞，而且讓這些細胞分化成為類似卵巢的卵泡構造，這個文獻在Human Reproduction雜誌成為封面（圖1）。在這個報導之後，許多新的國際文獻報導關於小鼠方面的研究證實胚胎幹細胞確實能發育為生殖細胞。而到了2012年日本學者Hayashi團隊已能把老鼠的纖維母細胞轉化為iPS細胞，然後培育成為卵子而具有受精的能力。而我們也延續2007年的研究，使用轉殖基因的人類胚胎幹細胞株（H9 Oct4-EGFP），這株細胞在Oct4的引導之下是可以表現出GFP綠色螢光。由於幹細胞在未分化狀態下會表現Oct4，所以是呈現綠色螢光。而當這些細胞在體外逐漸分化到20~30天之後，我們發現有一些細胞還是呈現綠色，代表分化之後還是有細胞表現出Oct4，這樣的細胞就很有可能是生殖

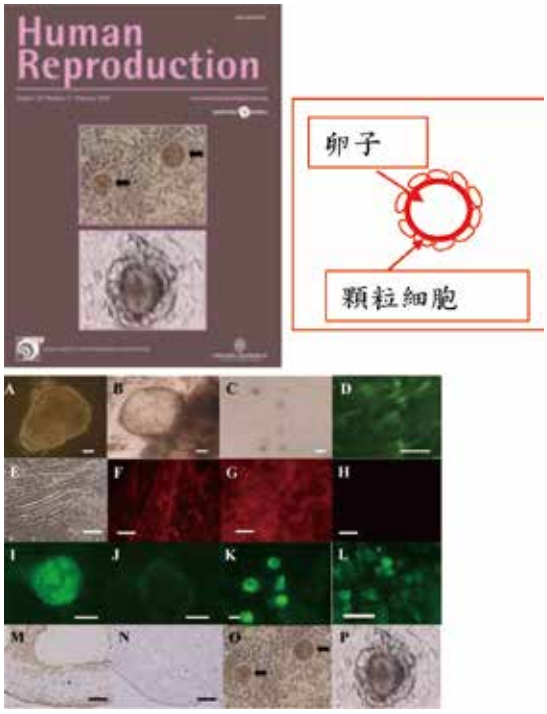

圖1：人類胚胎幹細胞發育為類似卵泡的構造（取材自：陳信孚、何弘能等. Human Reproduction 2007 Feb; 22 (2): 567-77）

細胞。因此我們把這個細胞株在不同培養環境下培養，包括與人類顆粒細胞共同培養，以及加入一些生長因子的組合來促進發育其為生殖細胞，而我們發現經過RA（或BMP4以及WNT3A）的處理，這些細胞在第28天以及第35天都可以明顯表現出生殖細胞特定的基因，包括VASA、GDF9、SCP3等，而且也可以得到一些細胞是表現出類似像卵泡的構造，中間有卵子，而旁邊是顆粒細胞（圖2）。目前我們正進一步努力希望這些生殖細胞能夠形成更成熟的卵泡構造，初步的研究已經有一些曙光出現，包括嘗試用其他的方法，譬如大量表現NOBOX以及FIGLA，以便這些初期的生殖細胞更有機會能夠進一步形成卵泡。這個模式形成後，接下去則就是來測試各種藥物是否能讓這些生殖細胞存活久一些、或是促進其增長數目。未來這些藥物就可以用在卵巢功能不好或是年齡較大的婦女，希望以讓這些婦女卵巢的功能延緩衰竭，或許就能夠把生育的年齡延後（圖3）。

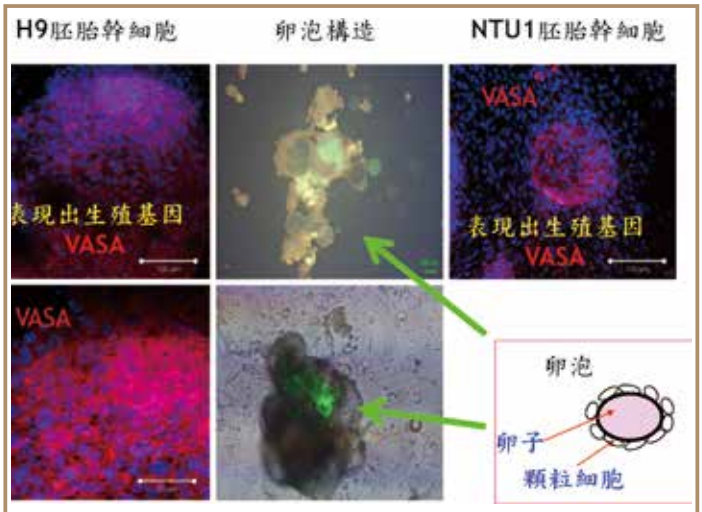

圖2：人類胚胎幹細胞（H9, NTU1)發育為卵泡的構造（取材自：陳信孚、何弘能等. Reproductive BioMedicine Online 2014; 29: 319-332）

疾病特殊的iPS細胞

有了上述幹細胞形成生殖細胞之技術，接下來重要的是這些幹細胞最好能與病人有直接相關，也就是病人量身訂做而來。在早期如果要得到病人量身訂做的幹細胞需要執行複製的技術（SCNT）來製造胚胎幹細胞，兩年前這種技術已被證實可以建立病人特有的胚胎幹細胞；但是這樣的技術比較困難也花錢，因此我們更著重於iPS細胞技術，也就是說從病人的身上拿到她的體細胞來建立iPS細胞（圖4）。因此我們的對象就是生殖醫學相關的疾病，包括卵巢早發衰竭以及多囊性卵巢症候群（PCOS）的患者，此時只要少量的皮膚細胞或血液細胞就能建立iPS細胞。例如我與何弘能教授已經建立兩株POF細胞株，並證實這些細胞確實在體內與體外都有發育成為三個胚層相關細胞的分化能力，而且最重的是這株卵巢早發衰竭病人的iPS細胞培育成生殖細胞時，表現出生殖細胞的基因像VASA、SCP3、GDF9的能力明顯較差；而且發育成為卵巢顆粒細胞的能力也有缺陷，包括所表現的FSHR、AMHR2、CYP19A1都不正常，因此這些缺陷就研究的角度來講成為一個非常好的模式，不但我們可以藉由這整個發育的過程來研究為什麼幹細胞發育成生殖細胞的能力有缺點，以便

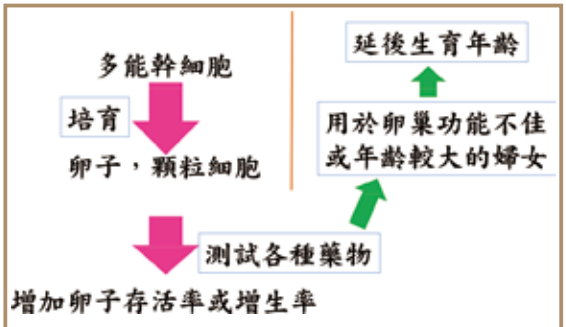

圖3：幹細胞做為測試藥物的細胞模型

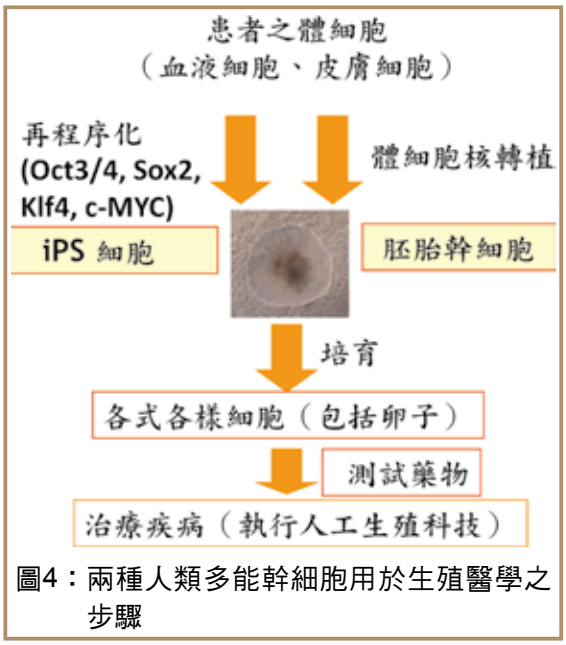

圖4：兩種人類多能幹細胞用於生殖醫學之步驟

來研究疾病的機轉之外，可以藉由此特性來篩檢藥物，希望能找到藥物對生殖細胞發育或存活有影響。另外一個幹細胞在生殖醫學之研究重心是多囊性卵巢症候群（PCOS）的病人所建立出來之iPS細胞，目前我們已經從PCOS病人身上得到他們的血液來建立iPS細胞，一樣的我們讓這些細胞發育成為生殖細胞、顆粒細胞、脂肪細胞與腦下垂體的Gonadotrope。因此我們得以藉由這些iPS細胞之差異來來進行研究。

已建立之細胞株

目前我們針對多囊性卵巢症候群或是POF患者都已經建立好幾株iPS細胞，現在正努力簡化這些過程，包括使用的細胞只要少量，例如10cc~20cc的血就能建立iPS cells，而不見得需要皮膚切片。但是用這些iPS cells做為疾病模式還有很多需要克服；第一點，再程序化（Reprogramming）的技術還需要再進一步改善。第二點，病人的iPS細胞是不是可以忠實顯現出疾病型態。第三點，從幹細胞發育成的脂肪細胞、顆粒細胞、生殖細胞，很多都還是在比較不成熟的狀態，而且很多的疾病所牽涉到的都不只一種細胞。最後是能否同時進行大量分析以及篩檢這些幹細胞的產物。這些點在生殖醫學的疾病的研究上有時候會比較困難，譬如POF通常是在年紀比較大時出現。因此是不是可以在體外經由iPS細胞，以及藉由分化很短的時間就看出明顯的疾病型態並不確定。因此目前我們還在建立最完整的疾病型態，與多層次篩檢方法來使用這樣的疾病模式，也會選擇最好的細胞株，針對疾病種類的需求去做分析研究。而這些細胞株建立出來以後不但我們使用，也可以提供其他有興趣的學者們研究，同時我們的實驗室也可以與其他團隊合作，甚至幫其他團隊建立它們所需要的iPS細胞。

結論

因此就生殖醫學角度來講，幹細胞在未來治療疾病以及疾病藥物的篩檢都會很有未

來性。因此結論是：在人類胚胎幹細胞與iPS細胞的疾病模式上，這幾年來已經有快速進展，一些可能在未來臨床應用上的潛能其實都發揮出來了，有些方面還可能會取代許多動物研究模式，以減低使用動物的數量。而POF、PCOS的疾病特定的iPS cells都已經建立出來，可以對我們研究生殖醫學非常有用。但我們還需證實這些iPS細胞確實可以用來篩檢藥物，也期待其產物可以直接用於生殖相關疾病。幹細胞的研究是一個非常耗費人力與耗費經費的研究，因此我們有許多合作單位包括基因體暨蛋白體醫學研究所、臺大醫院婦產部、台北醫學大學、中研院都有許多合作對象與團隊，讓我們整個的研究團隊能夠更有效率及更好的成果。

（作者係母校醫學系1986年畢業，現任母校基因體暨蛋白體醫學研究所教授兼所長、附設醫院婦產部教授／主治醫師）

104年1~3月徵信錄

一　般　捐　款

日期	姓名	台幣	美金
103/12/31	陳慧玲	10,000	
103/12/31	陳為堅	10,000	
104/1/21	蔡東明	10,000	
"	財團法人珍水文化藝術基金會（洪水樹校友）	5,880,000	
104/3/18	林明燦	100,000	

（醫學人文博物館專戶）

日期	姓名	台幣	美金
104/3/9	侯勝茂	100,000	
"	楊隆煌	10,000	
104/3/10	歐元貿易有限公司（許人信）	100,000	
104/3/16	洪美惠（陳勝雄夫人）	5,000	
104/3/18	賴玉森		10,000

台灣產前基因診斷的發展

文／林芯伃

細胞基因檢測（Cytogenetics）

自從1966年第一次成功培養羊水細胞，使得產前獲得胎兒細胞成為可能，進一步方能利用胎兒細胞進行各種的產前基因診斷。1968年Caspersoon首次以螢光染色及螢光顯微鏡觀察到染色體呈暗帶及亮帶的分布（Banded chromosome），一年後，Giemsa-trypsin染色法成功地將染色體染成黑白深淺不一，使得染色體的辨識更為容易及準確。台灣在1980年代成立第一個羊水實驗室以後，細胞遺傳的檢查迄今已經成為醫療常規，針對各種高風險的個案（例如超音波異常、唐氏症篩檢高風險、異常家族史、曾生育過異常胎兒等等），國民健康署更於2014年將羊膜穿刺費用的補助從新台幣兩千元提高至五千元。根據筆者於2013年的統計，台灣孕婦接受羊膜穿刺的比例從2006年的12.2%提升至2010年的20.1%，配合母血唐氏兒篩檢計畫的推廣，台灣唐氏兒的活產比例也從2006年的25.88%大幅降至2010年的5.99%，這意味著，許多染色體異常的胎兒可以透過產前細胞遺傳檢查而被發現，提升產前的診斷率及照護水準。

即便有了穩定的染色體分析技術，傳統的羊水染色體檢查受限於其解析度（約5-10Mb），無法診斷出基因劑量變異小於5Mb的微片段缺失／重複，這些胎兒出生後往往又會出現多發性異常，讓父母難以接受，也導致醫病關係緊張。臺大醫院於2008年建立晶片式比較基因體技術（array CGH），可以提供產前胎兒微片段缺失／重複的檢查。目前已有三千多名孕婦接受此產前晶片檢查，其診斷率比傳統染色體檢查高出8%，在產前超音波異常的個案中，約有20%可以透過此晶片檢查找到致病原因。此大規模的研究業已於2013年發表在英國婦產科醫學會期刊（BJOG），並受到世界各國的肯定，獲邀於世界胎兒醫學會、亞太婦產科學會與歐洲胎兒醫學會發表研究成果。2010年時，美國小兒科學會建議將基因晶片分析改為診斷智能異常、發育遲緩以及多發性異常的第一線診斷工具，台灣領先於世界各國將基因晶片技術應用於產前篩檢。2013年起，漸漸有愈來愈多的臨床醫師接受將產前基因晶片用於產前第一線的篩檢。

此外，自2012年起，隨著次世代全基因體定序技術（The next generation sequencing）的成熟，台灣也發展了經由母血中游離胎兒DNA來篩檢唐氏症胎兒的技術，這種非侵

入性的檢測方式，其唐氏兒的檢出率約可達98%，目前更可以同時檢測多種的微片段缺失，診斷技術與世界接軌，由母血中游離胎兒DNA來篩檢唐氏症胎兒的技術可以篩檢出愈來愈微小的異常。

分子生物檢測（Molecular Genetics）

台灣產前單一基因疾病的診斷則是2001年從台灣最常見的隱性遺傳疾病—地中海型貧血基因型分析開始，地中海型貧血屬於一種慢性、隱性遺傳溶血性的貧血症，無傳染性，也無法根治，且男女患病機率相同，因好發於地中海沿岸而得名。目前台灣地區大約有6%的帶因者，其中4%是甲型帶因者，2%屬乙型帶因者。大部分的病人多屬不會產生任何症狀或對身體健康沒有影響的甲型帶因者，只有少數病人是屬於乙型帶因者，平均每十六個人中就會有一個帶因者。一開始地中海型貧血的檢測是利用血紅素電泳來區分各種型別，然而，光靠血紅素電泳，可能無法檢查出同時為甲型和乙型的帶因者，有些特殊變異的帶因也不易檢測出來，再加上傳統的血紅素電泳定量HbA2及HbF值，可能不夠精確，特別是如果HbA2介於3~4之間，在甲型及乙型帶因者的區分上便有所困難。因此，地中海型貧血帶因者的基因型分析便是最重要的診斷依據。台灣目前也發展了相當多的地中海型貧血基因診斷方式，解決最常見的隱性遺傳疾病為家庭及社會所帶來的困擾。

脊髓性肌肉萎縮症（SMA）則是台灣第二常見的隱性遺傳疾病。在過去，SMA的基因診斷可以藉由SSPC、RFLP或RT-PCR等等方法，但是這些方法的準確度卻不高，而且無法正確診斷出帶因者。臺大醫院於2005年建立DHPLC的診斷平台，可以正確診斷SMA並加以區分各種基因型以及帶因者，我們將這套檢測方法推廣至全國產前孕婦帶因者篩檢，希望能在產前就篩檢出SMA帶因的夫婦，協助她們進行遺傳諮詢與產前診斷，讓他們在充分的心理準備下迎接新生兒。我們自2005年建立全國性的SMA篩檢系統，至2009年已經有107,611名孕婦接受這項篩檢，檢測出47對夫婦皆為SMA帶因者，其中有43對夫婦接受了產前基因診斷，發現12名胎兒的確具有雙股SMN1基因的缺失。此項大規模的篩檢成果業已發表於2011年PLoS One國際期刊，並受到國際矚目，對於是否應該在其他國家建議進行產前SMA帶因篩檢計畫也扮演相當重要的角色。

目前台灣的產前基因診斷技術與平台皆與歐美各國齊步，甚至有多項檢測是居於領先的地位。未來，透過次世代全基因體定序技術，母血中游離胎兒DNA非但可以用來篩檢染色體數目的異常以及微片段缺失，也可以應用於單一基因疾病的診斷，有可能取代侵入性的羊膜穿刺檢查與染色體核型分析和基因晶片，提升產前檢查的安全性與品質。

胚胎著床前基因診斷（PGD）

胚胎著床前基因診斷技術（Preimplantation Genetic Diagnosis, PGD）是一種著床

前的診斷技術，主要的目的是避免遺傳疾病的傳遞。帶有遺傳疾病的父母，包括單一基因缺陷，如體染色體隱性、顯性和性聯遺傳的疾病，還有染色體異常，如染色體轉位，羅勃遜轉位等，在生育下一代時，都需經過二分之一、四分之三的隨機機率，直到孕期三個月後進行絨毛膜穿刺或羊膜穿刺基因檢測，最壞的結果甚至為中止妊娠；若能利用胚胎著床前基因診斷之技術，配合試管嬰兒的療程，將檢測提早於胚胎著床前，避免植入患有基因疾病或染色體異常的胚胎，而將無遺傳疾病之胚胎植回母體，使其於在孕期之擔憂減少許多，避免需要重覆進行人工流產帶給孕婦身心嚴重的打擊。台灣自2010年建立PGD的診斷技術，先確定該家族內的基因突變點位，針對該突變設計基因探針，配合試管嬰兒療程，待胚胎發育至八細胞期（第三天）或者囊胚期（第五天）時，即可以進行胚胎切片，將切下來的一小部分胚胎進行DNA萃取後，即可進行基因突變分析，一方面以分子生物學方法直接檢測該突變點位，另一方面會以短片段DNA重複序列方法進行間接診斷，以提高準確率。約兩天後可以得知胚胎是否具有該基因突變，再進行胚胎植入。讓帶有遺傳性疾病的家族，可以透過胚胎著床前基因診斷降低胎兒罹患該家族遺傳性疾病的風險。

胚胎著床前基因篩檢（PGS）

胚胎著床前基因篩檢（Preimplantation Genetic Screening, PGS），則是為不孕症患者、有多次流產病史的婦女、高齡產婦、反覆體外受精失敗的患者等，利用此一篩檢技術把染色體異常的胚胎先篩檢出來，只植入正常的胚胎，可以大大的增加懷孕成功率。根據統計，目前每七對夫婦中就有一對有不孕的困擾，每年世界上約進行一百萬試管嬰兒的週期，然而，卻只有30~40%的週期可以順利懷孕，其中，最主要的影響因素就是染色體數目的異常而導致流產。晶片式胚胎著床前染色體篩檢則是為了解決這個問題而研發出的技術，過去可以利用螢光原位探針雜交分析（Fluorescence in situ hybridization, FISH）進行特定染色體的數量分析，或針對5~9條染色體進行篩檢，但是此法需要較高的技術門檻，而且也會有7-10%的錯誤率。目前臺大醫院採用基因晶片的方式進行胚胎染色體的篩檢，可以一次就檢視46條染色體有無增減，也可以偵測出片段缺失或重複。對於高齡且習慣性流產或者高齡且反覆著床失敗的婦女，藉由此基因晶片進行胚胎染色體的篩檢後，可以將懷孕率分別由不到10%提高至20~30%；此外，經由篩選淘汰掉染色體異常的胚胎，也可以減少胚胎植入的數目，降低多胞胎的發生機率，當然，也降低了由於胚胎染色體異常而流產或需要進行流產手術的機會。

（作者係母校醫學系2003年畢業，現任母院附設醫院婦產部主治醫師）