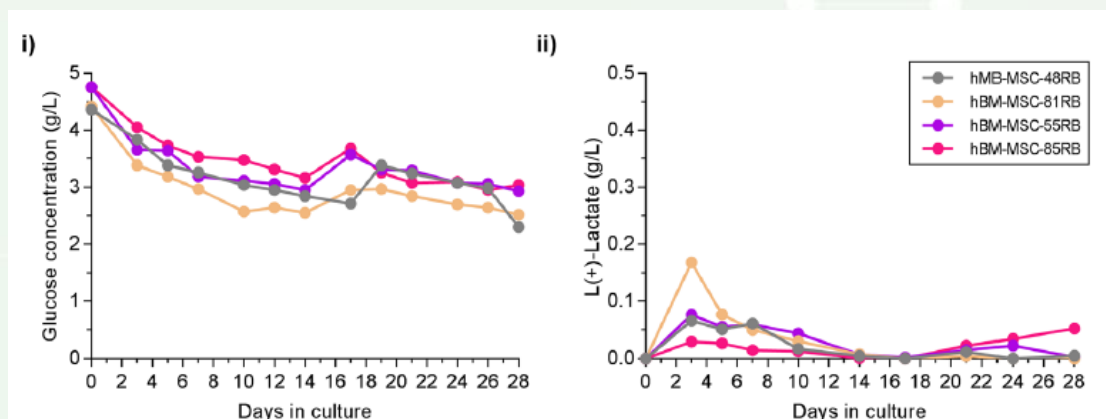


# hBM-MSCs EVs 的免疫調節抗原特徵(上篇)- FiberCell 中空纖維生物反應器的連續生產

經由人類骨髓間質幹細胞(hBM-MSCs)產生的細胞外囊泡(EVs)被認為可能具有免疫調節疾病的臨床相關性，然而低濃度的 EVs 生產率通常難以支持與驗證相關測試。在 2021 年發布了一份 FiberCell 中空纖維生物反應器系統的 EVs 生產研究，這套系統可長時間持續性地培養同一批細胞，且即時收集濃縮後的 EVs，在這篇研究中表明此系統可以收集到相同質量和數量的 EVs，比傳統的 EVs 生產方法更適合用於製造用於人類治療的產品。

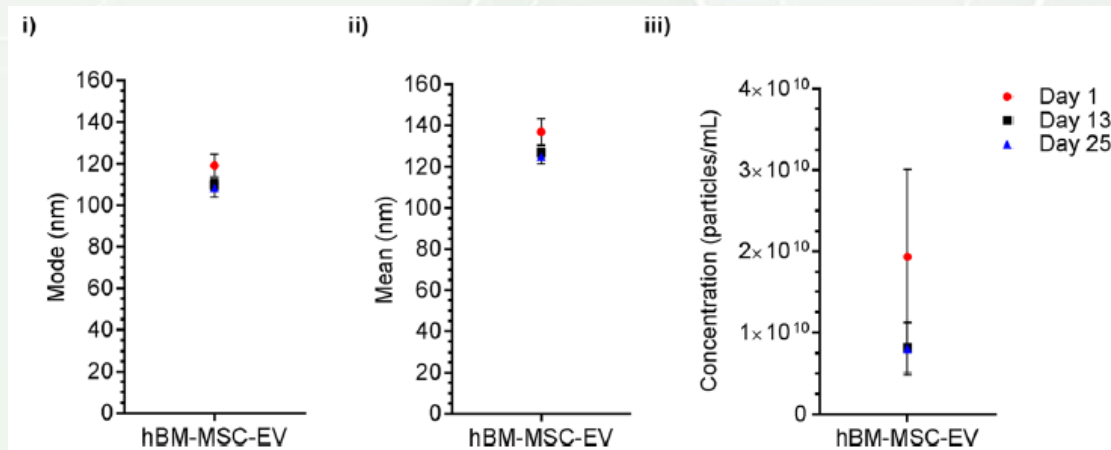
在這篇研究中，研究人員以具有 20-kD MWCO 的 PS 材質中空纖維管柱，分別接種  $90-220 \times 10^6$  細胞數的 4 個不同來源 hBM-MSCs。培養基使用每 2-3 天更換 1 次，從更換 250 mL(第 1-16 天)增加至 500 mL(第 17 天起)，同時監測培養基內的葡萄糖、乳酸濃度和 pH 值。在中空纖維內的 28 天培養過程中，培養基內的葡萄糖消耗、乳酸產生(參圖一)和 pH 值 (維持恆定範圍 pH 7.0-7.4)的變化量皆很穩定，表示細胞的生長及狀態維持著一定的活性。



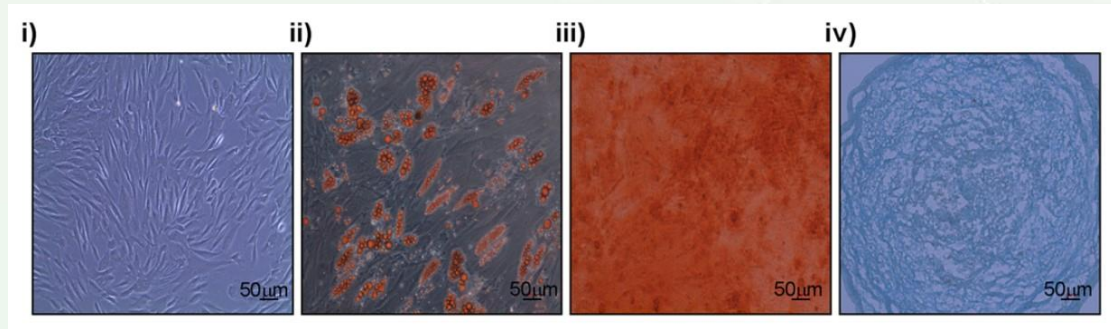
圖一 28 天內培養基的(i)葡萄糖濃度；(ii)乳酸濃度變化。

研究人員以 Nanoparticle tracking analysis(NTA)分析培養過程前、中、後期 EVs (1-2 天、13-14 天、24-25 天)的濃度及大小，前期得到約  $1.9 \times 10^{10}$  particles/mL、大小分布為 103-128 nm；中期得到約  $8.2 \times 10^{10}$  particles/mL、大小分布為 102-114 nm；後期得到約  $8.1 \times 10^9$  particles/mL、大小分布為 96-116 nm。在 EVs 生產的最後一天(第 25 天)，使用 Trypsin-EDTA 0.25% 回收 hBM-MSCs (細胞活性 >85%)，進行中胚層分化能力觀察確保這些細胞維持原本的功能性。這些收下來的細胞除了可以被成功誘導分化成脂肪生成(adipogenesis)、成骨生成(osteogenesis)、軟骨生成(chondrogenesis)細胞，並且具有 MSC 已知的 surface marker 的 CD73、CD90 高表現量，有趣的是，CD105 則是在進行後續 7 天的 2D 培養後恢復表現( $0.3 \pm 0.1\%$ )

提高至  $99.9 \pm 0.2\%$  )。



圖二 培養前中後期的 EVs 分佈概況: (i)大小 ; (ii)平均大小 ; (iii)濃度。



圖三 (i)貼附塑膠表面 ; (ii)脂肪生成(adipogenesis) ; (iii)成骨生成(osteogenesis) ; (iv)軟骨生成(chondrogenesis)細胞。

這份綜合研究提供了在符合 cGMP 條件下，在 25 天時間內，FiberCell 中空纖維生物反應器可以用以製造人類 MSC-EV，進一步分析各時間點收集到的 EVs 的免疫表現型，確認其保有一致的品質，將有助於克服臨床應用的挑戰。除了上述討論外，在此篇文獻中，研究人員也將不同時期的 EVs 後續進行 Lectin microarray、EV glycan、Immunophenotyping、Cytokine/chemokine/growth factor 分析。更多參考請洽岑祥當區業務。