

# 多能幹細胞的實用技術發展

## 心臟 & 皮膚

陳國凱

澳門大學健康科學學院

2023.05.23



澳門大學  
UNIVERSIDADE DE MACAU  
UNIVERSITY OF MACAU

- 技術特點和發展佈局
- 皮膚角質細胞
- 心肌細胞

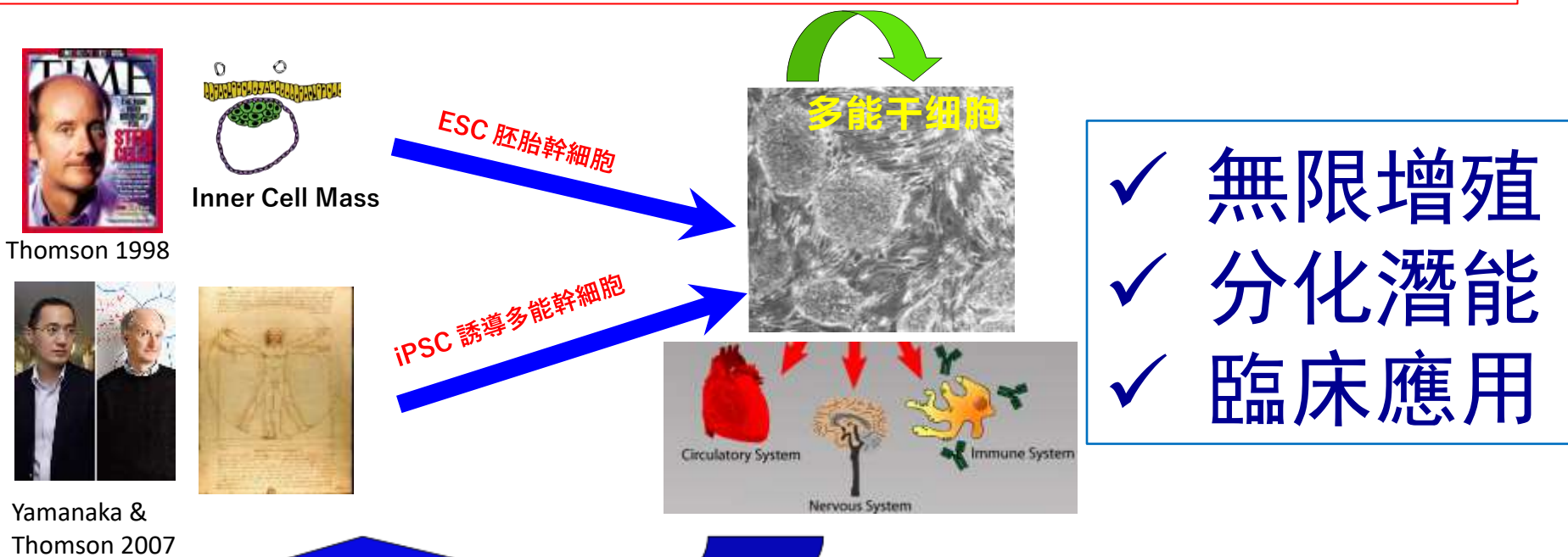


# 技術發展的核心材料 - 人類多能幹細胞

細胞治療充滿機遇： 輸血、骨髓、血液幹細胞、CAR-T細胞、角質細胞、間充質幹細胞 ...

人體有~200種不同細胞 -

但是，絕大多數不能體外大規模擴增，因而不能用於移植

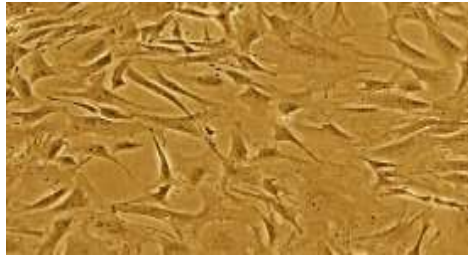


新型細胞  
藥物研發



澳門大學  
UNIVERSIDADE DE MACAU  
UNIVERSITY OF MACAU

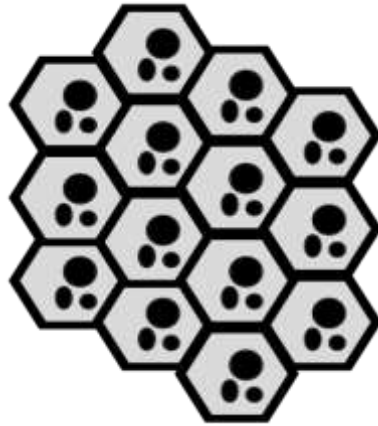
# 干细胞培养分化条件的革新是实现医疗应用的前提



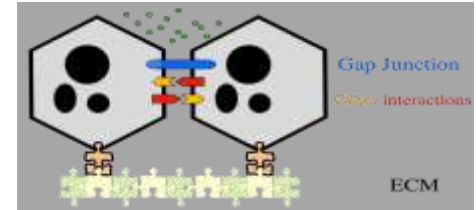
**Feeder Culture**  
侍養層-動物細胞



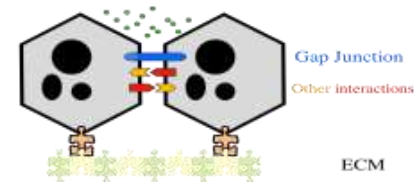
**Embryo**  
胚胎



幹細胞培養技術發展



**Undefined Culture**  
不確定組份-動物材料



**Defined Culture**  
確定組份-無動物材料

动物组份，未知杂质，复杂构成不利于临床转化



# 当前多能干细胞的国际临床应用

## iPSCs

Parkinson's Disease<sup>1)</sup>

Macular degeneration<sup>2)</sup>

Retinitis pigmentosa<sup>3)</sup>

Corneal disorder<sup>4)</sup>

Heart failure<sup>5)</sup>

Spinal cord injury<sup>6)</sup>

Platelet transfusion<sup>7)</sup>

Graft versus host disease<sup>8)</sup>

Cartilage defect<sup>9)</sup>

Cancer immunotherapy<sup>10)</sup>



## ESCs

Parkinson's Disease<sup>11)</sup>

Macular degeneration<sup>12)</sup>

Retinitis pigmentosa<sup>13)</sup>

Amyotrophic lateral sclerosis<sup>14)</sup>

Spinal cord injury<sup>15)</sup>

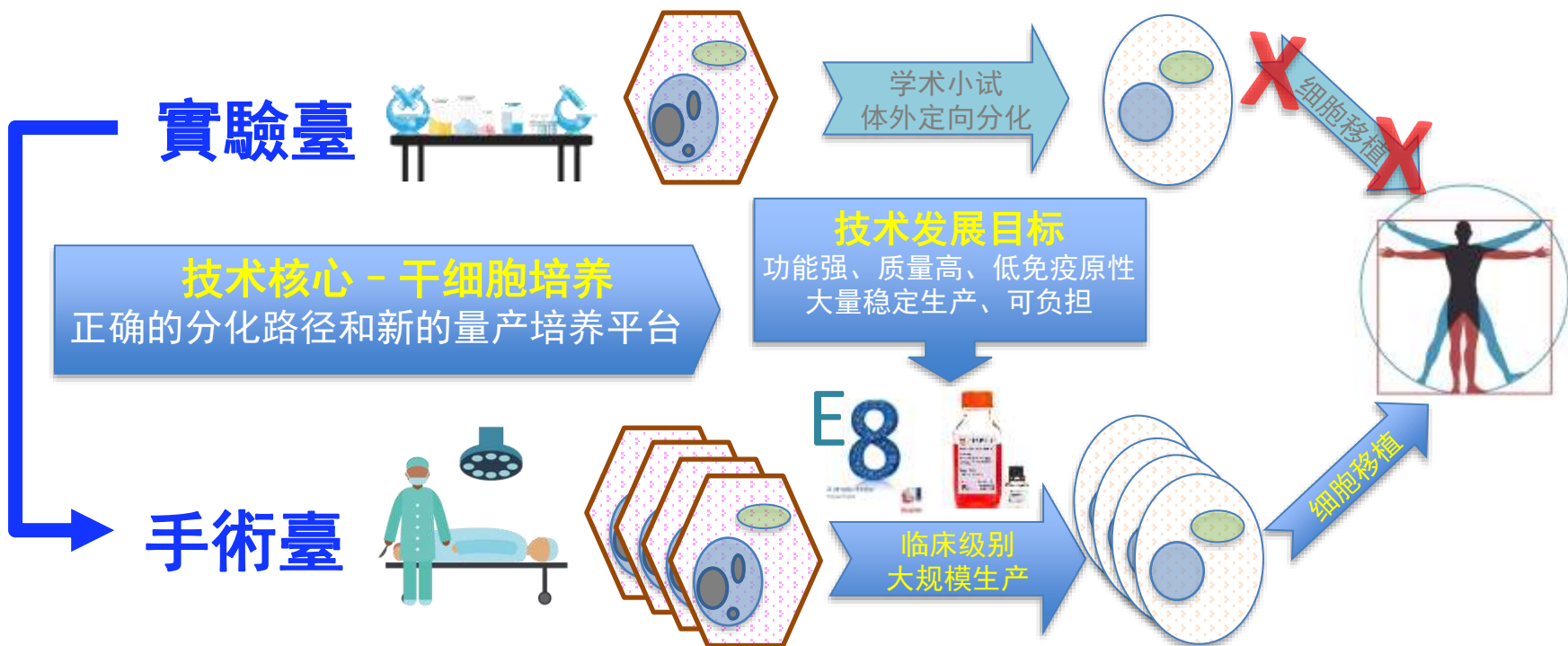
Type I Diabetes<sup>16)</sup>

Citrullinemia type 1<sup>17)</sup>

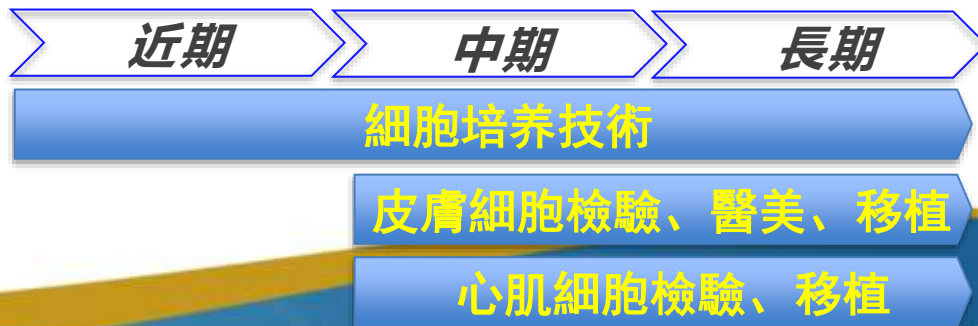
Intrauterine Adhesions<sup>18)</sup>



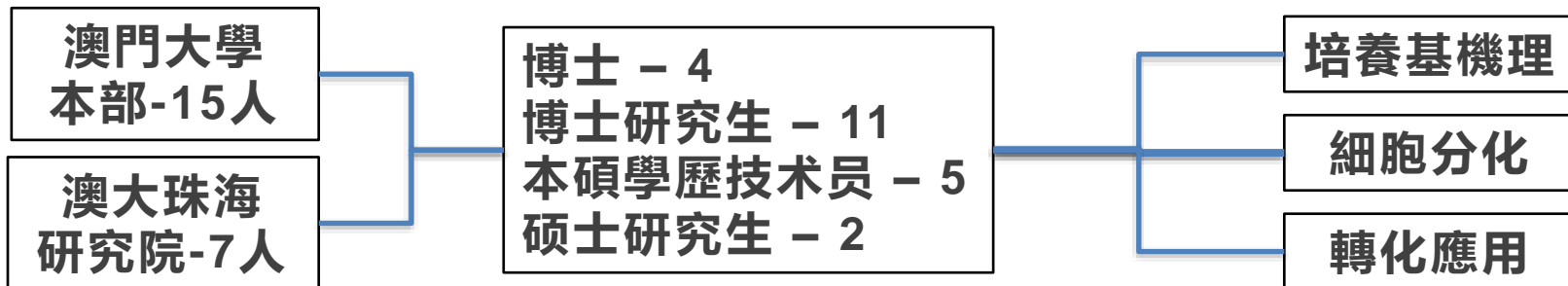
# 細胞治療面臨的瓶頸問題： 分化技術 + 大規模生產技術 + 臨床適用技術



## 技術轉化進程



# 我們的團隊



# 現有技術積累 – 無動物組份、易調控、易轉化

## 已转化的技術

### Stem Cell Tech. Inc. 产品



干细胞维持  
- TeSR-E8

细胞重组  
- TeSR-E7

### Life Technology Inc. 产品



A simple choice  
Counted 8 media

干细胞维持/分化  
- Essential 8/6

干细胞介质  
- Vitronectin



2019年新产品 – Essential 8 Flex

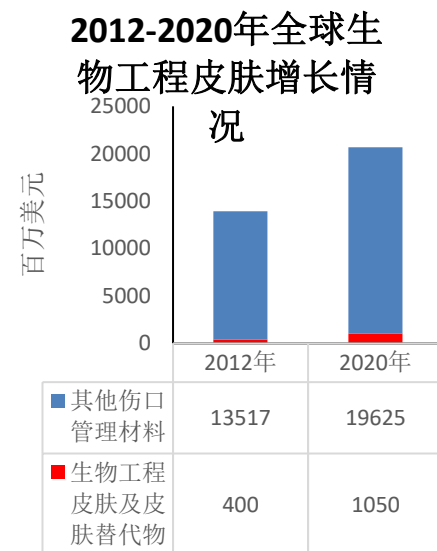
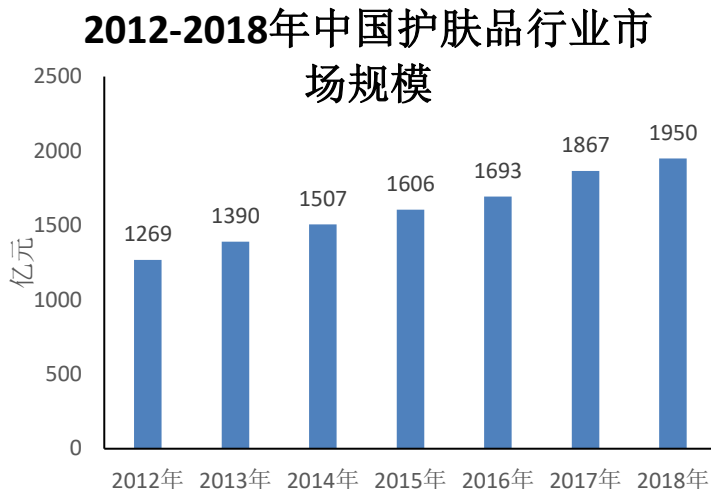
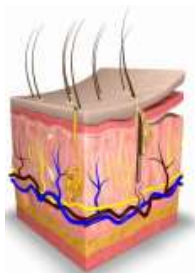
## 待转化的澳門大學專利技術 (2014-2022)

UM Reference	Jurisdiction and Type	Status	Application Number	Filed on	Title (Chi)
<b>细胞生产</b>					
UMPT166-2018	China Invention	Office Action	201811248263.9	24-Oct-18	ERK5激酶及其抑制剂在干细胞分化中的应用
UMPT167-2018	China Invention	Granted	201811277842.6	30-Oct-18	通过IGF/胰岛素通路调节hPSC分化方向的方法及应用
UMPT291-2020	China Invention	Filed	202210378168.0	12-Apr-22	一种诱导干细胞分化为心肌细胞的方法及其培养基组合
UMPT279-2020	China Invention	Office Action	202110220197.X	27-Feb-21	氟离子阻断剂诱导干细胞分化成心肌细胞的方法及心肌细胞与其应用
UMPT280-2020	China Invention	Office Action	202110221043.2	27-Feb-21	诱导干细胞往心肌细胞方向分化及心肌细胞传代与纯化的方法及药剂
UMPT281-2020_CN	China Invention	Office Action	202110221046.6	27-Feb-21	一种诱导干细胞分化成中胚层谱系或滋养细胞谱系的方法及药物
UMPT281-2020_PCT	PCT	Filed	PCT/CN2021/093498	13-May-21	一种诱导干细胞分化成中胚层谱系或滋养细胞谱系的方法及药物
UMPT284-2020	China Invention	Office Action	202110512941.3	12-May-21	一种胰腺祖细胞的制备方法及其应用
UMPT455-2022	China Invention	Internal process			一种人多能干细胞衍生通过定型内胚层产生间充质干细胞分化方案
UMPT168-2018	China Invention	Granted	201811248262.4	24-Oct-18	一种诱导干细胞逐步分化形成角质细胞的方法
<b>培养基</b>					
UMPT289-2020	China Invention	Office Action	202110610667.3	1-Jun-21	一种无血清调控干细胞的细胞状态的方法以及调节剂的应用
UMPT290-2020_CN	China Invention	Office Action	202110497193.6	7-May-21	一种脂类物质添加剂及其应用
UMPT290-2020_PCT	PCT	Filed	PCT/CN2021/098712	7-Jun-21	一种脂类物质添加剂及其应用
UMPT379-2021	China Invention	Office Action	202111226018.X	21-Oct-21	引导多能干细胞成为发育停滞的细胞的方法及应用
UMPT285-2020_CN	China Invention	Office Action	202110378340.8	8-Apr-21	甲状腺素的新的应用、培养多能干细胞的方法和培养基
<b>抗生素</b>					
UMPT292-2020	China Invention	Filed	202111477959.0	6-Dec-21	一种AKT抑制剂iv的应用、革兰氏阳性菌抑制剂及革兰氏阳性菌的体外抑制方法
UMPT408-2021_CN	China Invention	Filed	202210472331.X	1-May-22	AKT抑制剂iv在制备抑制细菌代谢和生长的试剂中的应用
UMPT408-2021_PCT	PCT	Drafting			一种可以抑制细菌呼吸、并与常用抗生素协同消灭格兰仕阳性和格兰仕阴性细菌的新型抗生素



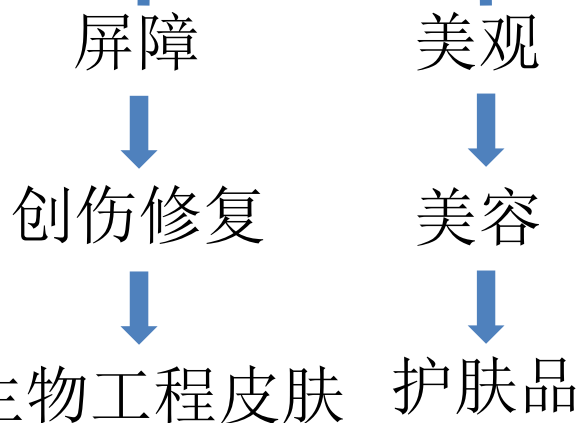


# 1. 皮膚細胞 - 廣闊市場



资料来源: Euromonitor 前瞻产业研究院整理

美國每年有 16 萬人需要皮膚移植，  
皮膚移植市場達 14 億美元 ( 2027 )  
皮膚替代物市場達 46 億美元 ( 2030 )

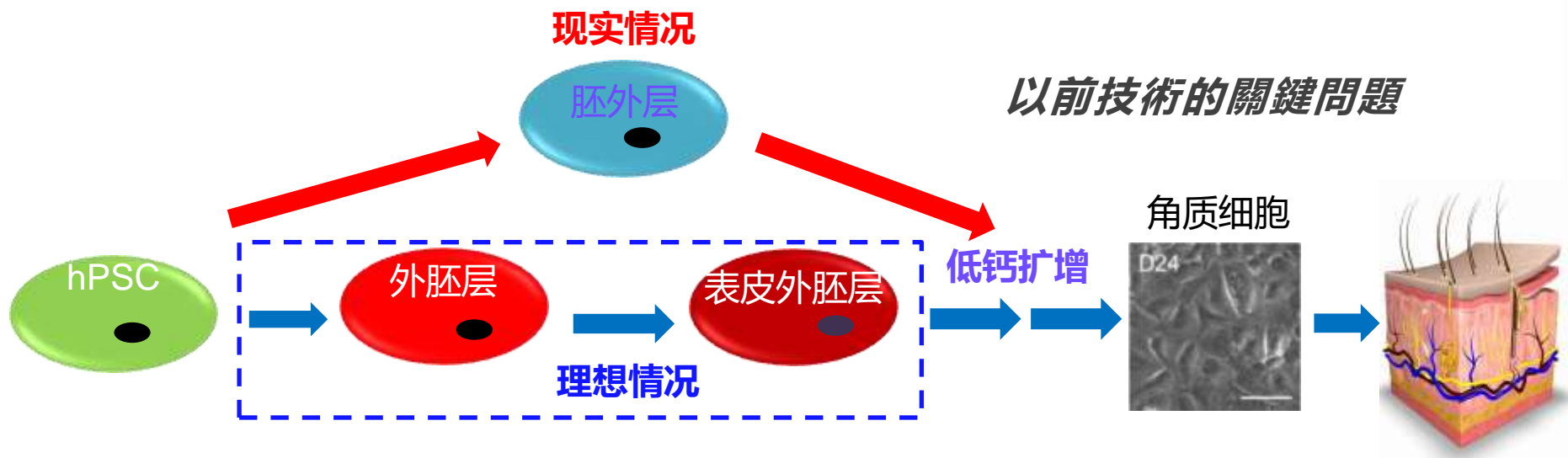


科学研究

## 当前市场的实际问题:

1. 缺乏充足的皮肤细胞
2. 细胞移植的免疫排斥
3. 细胞产品价格昂贵
4. 缺少美容护理的有效因子

# 人类多能干细胞 → 皮肤细胞

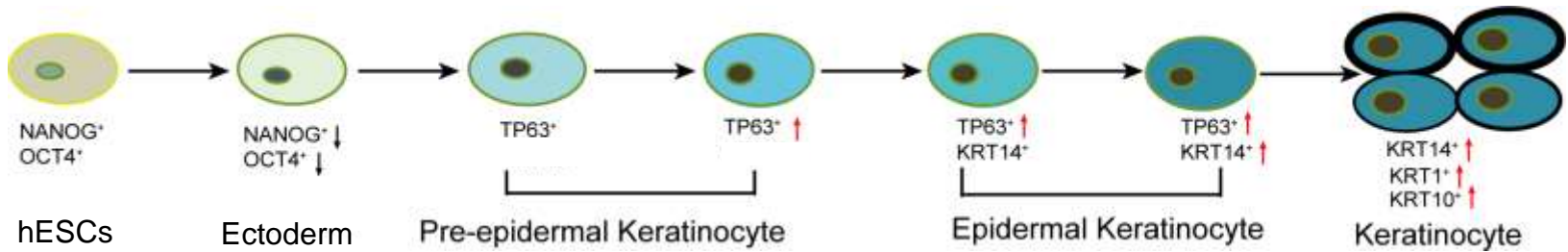
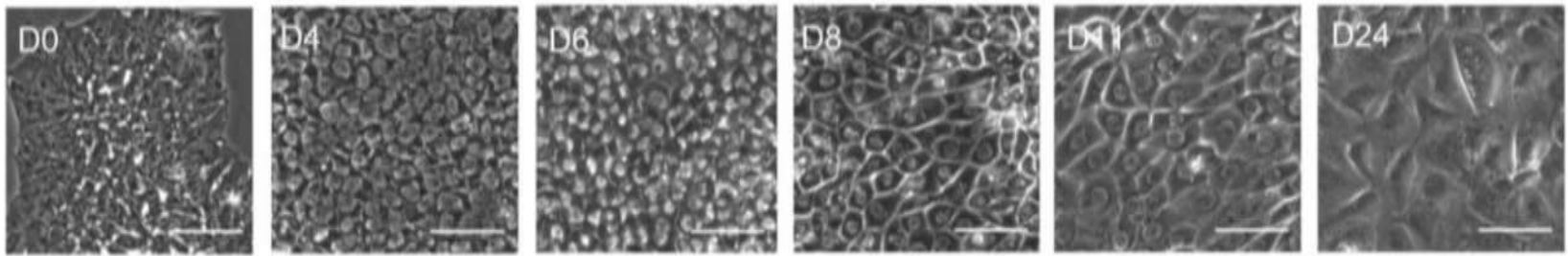
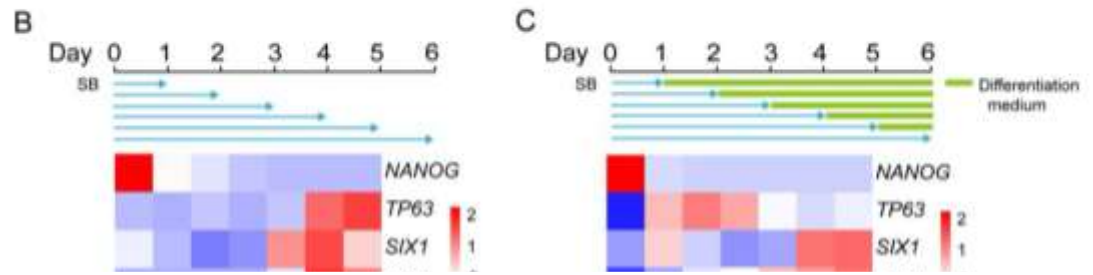
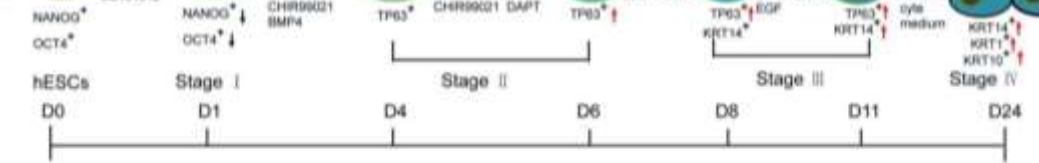


- ✓ 分化路径错误 - 细胞类型功能不匹配
- ✓ 分化条件含动物组份 - 免疫排斥
- ✓ 产量低，价格昂贵
- ✓ 组织工程技术待开发

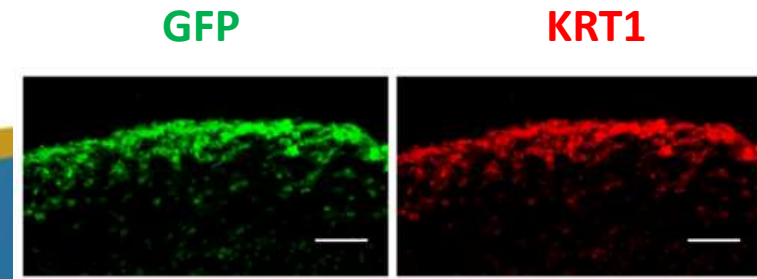
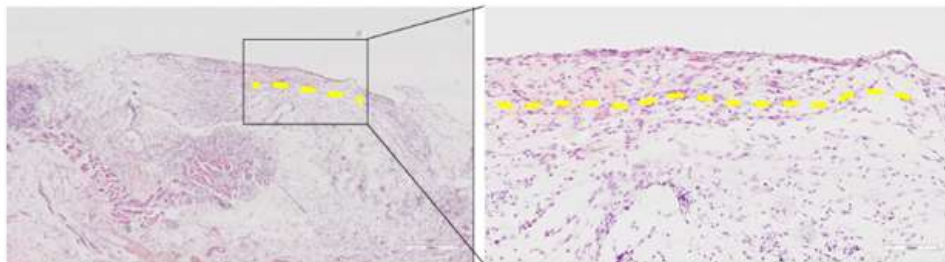


# 解决方案

- ✓ 正确路径逐步分化
- ✓ 无动物组份分化条件
- ✓ 三维体系量产
- ✓ 多细胞种类组织构建



## 創傷修復效果



# 已发表论文

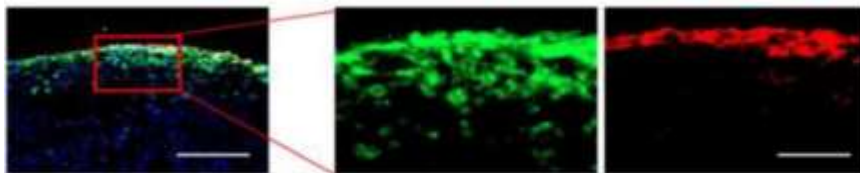
*International Journal of Biological Sciences*

2020; 16(8): 1450-1462. doi: 10.7150/ijbs.44414

Research Paper

## Stagewise keratinocyte differentiation from human embryonic stem cells by defined signal transduction modulators

Hui Zhong<sup>1</sup>, Zhili Ren<sup>1</sup>, Xiaoyan Wang<sup>1</sup>, Kai Miao<sup>2</sup>, Wenjun Ni<sup>3</sup>, Ya Meng<sup>4</sup>, Ligong Lu<sup>1,5</sup>, Chunming Wang<sup>6</sup>, Weiwei Liu<sup>1,7</sup>, Chu-Xia Deng<sup>7</sup>, Ren-He Xu<sup>1</sup>, Guokai Chen<sup>1,7\*</sup>



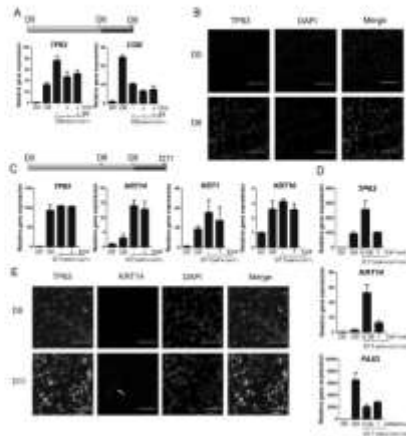
### (54) 发明名称

一种诱导干细胞逐步分化形成角质细胞的方法以及角质细胞

### (57) 摘要

本发明公开了一种诱导干细胞逐步分化形成角质细胞的方法和角质细胞：该方法包括将干细胞在基础分化培养基中进行分化形成角质形成细胞前体细胞和将角质形成细胞前体细胞诱导分化形成角质细胞的步骤；采用该方法可以逐步将干细胞诱导分化形成角质细胞，为诱导干细胞形成角质细胞提供了一种新的思路，具有操作简单、周期短等特点。

# 已批准專利



### (19) 国家知识产权局



### (12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 114752548 A

(43) 申请公布日 2022.07.15

(21) 申请号 202210470529.4

(22) 申请日 2022.04.28

(71) 申请人 澳门大学

地址 中国澳门氹仔大学大马路

(72) 发明人 陈国凯 张悦行

(74) 专利代理机构 北京超凡宏宇专利代理事务所(特殊普通合伙) 11463

专利代理人 覃蛟

(51) Int. Cl.

C12N 5/071 (2010.01)

C12N 5/0735 (2010.01)

# 新專利申請

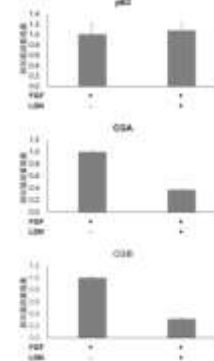
权利要求书2页 说明书6页 附图6页

### (54) 发明名称

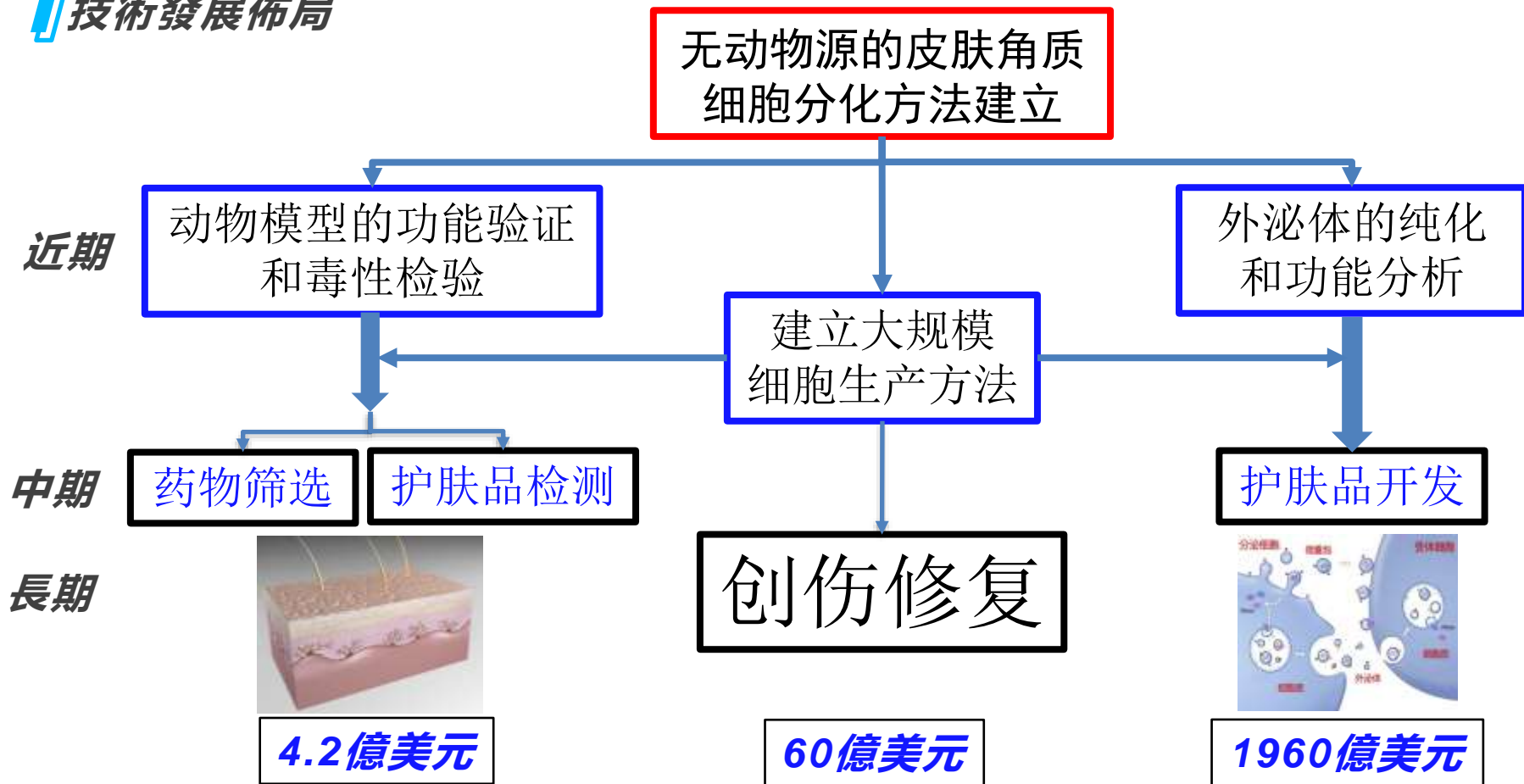
一种诱导干细胞分化为角质细胞的方法

### (57) 摘要

本发明公开了一种诱导干细胞分化为角质细胞的方法，涉及干细胞分化技术领域。本发明提出，在诱导干细胞分化为角质细胞的第0~4天中的任意时间中添加ERK通路激活剂，能够避免或减少胚外滋养层细胞来源的角质细胞，使得干细胞分化而成的角质细胞来源清晰，细胞的生理及其功能稳定，能优化细胞来源的角质细胞的分化效率以及产量，为角质细胞的稳定有效获取提供新思路。



澳門大學  
UNIVERSIDADE DE MACAU  
UNIVERSITY OF MACAU



最大的技術特點：**1. 當前唯一的按正確路徑分化的皮膚角質細胞**  
**2. 大規模無動物組份生產**



# 皮膚項目 - 發展模式

1年

3年

3 - 10年

細胞分化技術

細胞生物安全性

細胞功能驗證

外泌體生產技術

外泌體安全性、功能驗證

大規模生產體系建立

生產平台建設

化妝品、藥物檢驗服務

化妝品敷劑

外泌體臨床測試、新葯申請

細胞臨床測試、新葯申請

cGMP 生產平台

檢驗服務渠道

臨床試驗合作



科學技術發展基金  
F | D | C | T

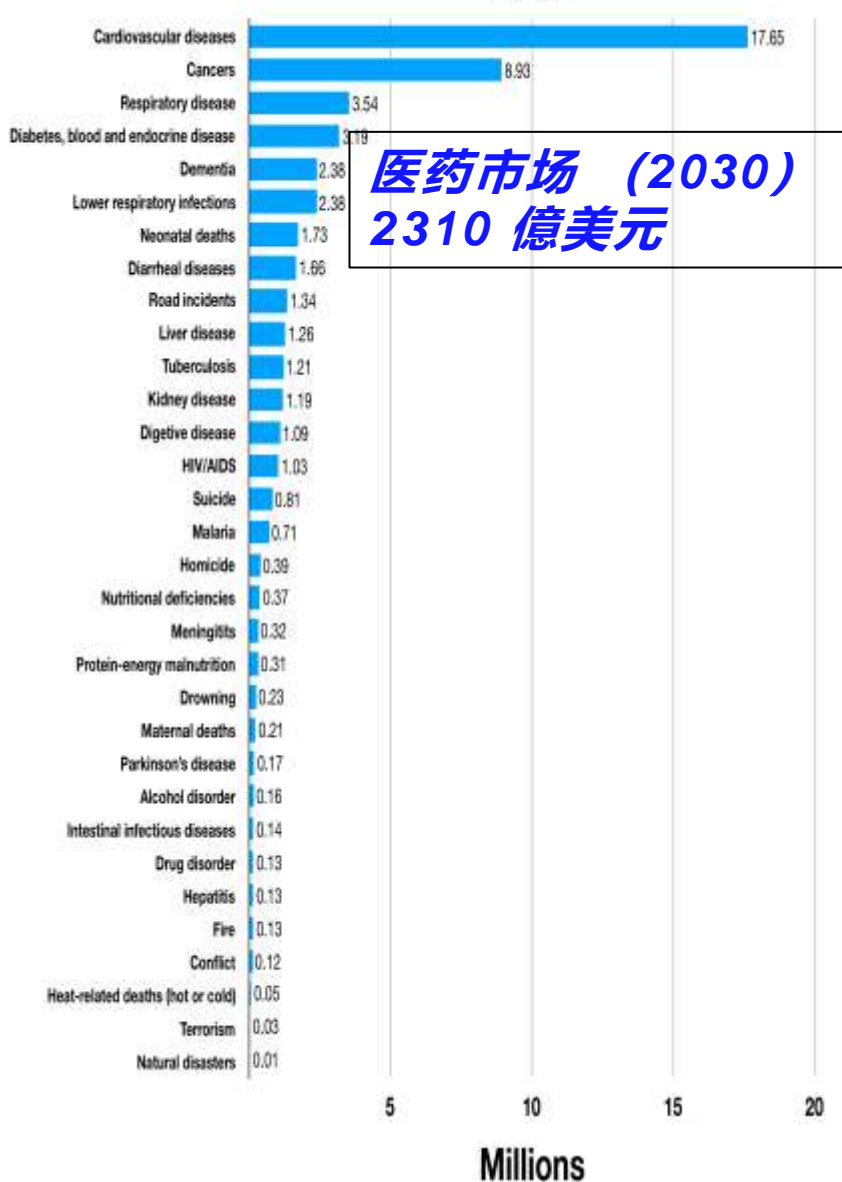


华发集团  
Huafa Group

科技 · 城市 · 金融 · 实业

## 2. 心肌：心血管疾病是人类的头号杀手

Annual Number of Deaths by Cause  
(World) (2018)



## 心力衰竭 *Heart Failure*

简称心衰，是心脏疾病发展的终末阶段，几乎所有的心血管疾病（如心肌梗死、心肌病、心肌炎等）最终都会导致心力衰竭。终末心衰唯一有效的治疗方式是心脏移植，但供体严重匮乏。《中国心血管病报告2018》显示，2017年中国心脏移植手术仅为559例。

3000万

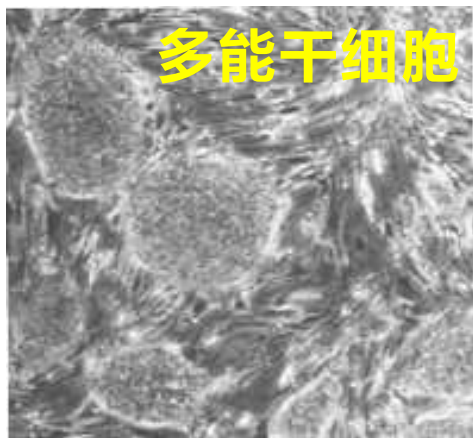
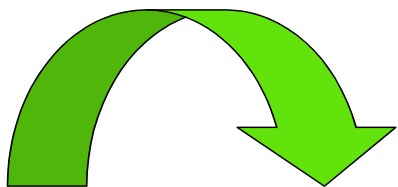
全球患病人数3000万

1370万

我国现存心衰患者  
1370万

全球每年有 5,000例心脏移植，  
同时有50,000人等待  
心脏移植市场达 16 亿美元（2030）

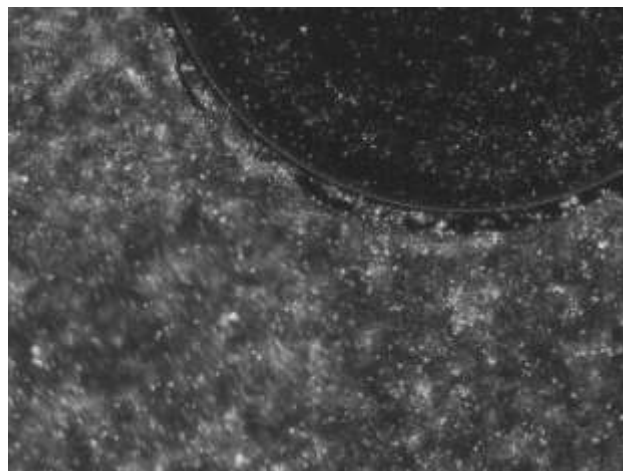
# 多能干细胞的巨大潜力



定向分化



心脏细胞



干细胞技术的优势：

1. 充足的心肌细胞
2. 病人特异细胞可避免免疫排斥

- ✓ 无限增殖
- ✓ 分化潜能
- ✓ 临床应用

臨床試驗：心肌移植有療效！！





# 从科研到产品的质量考虑：心肌细胞生产方法



# 細胞治療面臨的瓶頸問題： 分化技術 + 大規模生產技術 + 臨床適用技術

## 通用方法的潛在缺陷：

1. 手段單一，不反映複雜的發育過程  
*WNT激動劑 + 後續的WNT抑制劑*
2. 細胞類型不清  
*心房心室來源不明，沒有細胞特異性*
3. 它們真的是大家能做到的最好的移植材料嗎？  
*不是，我們可以做得更好*



## 新方法：

- IGF抑制劑
- ERK5激酶抑制劑
- 氯离子通道抑制劑
- 烟酰胺
- P38抑制劑
- 肝素
- ...

## 技術轉化進程

近期

中期

長期

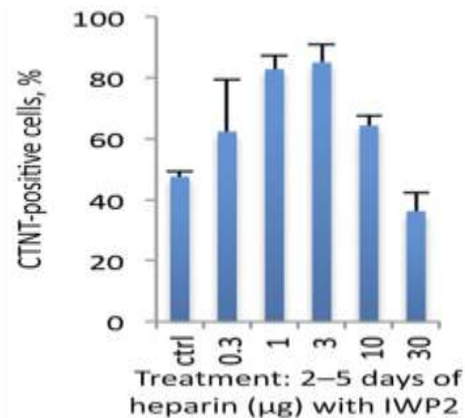
細胞分化技術

心肌細胞檢驗

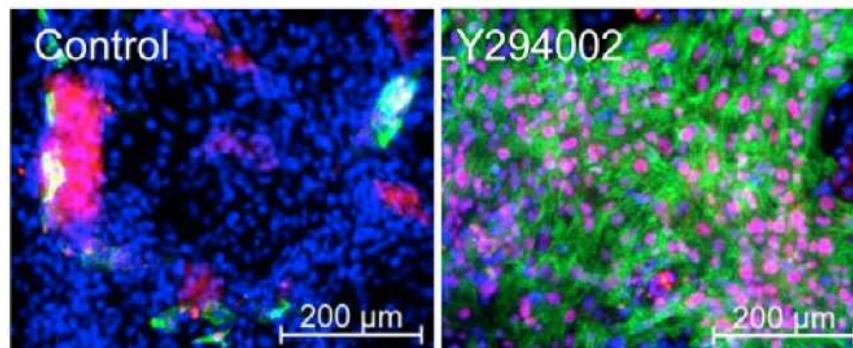
心肌細胞移植

# 新型心肌分化方法：肝素、IGF抑制剂、CK2抑制剂

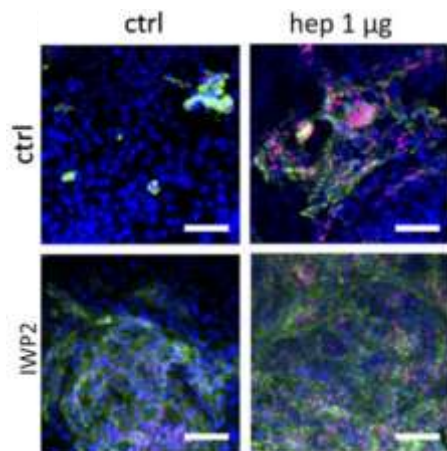
肝素诱导心肌



IGF 通路抑制诱导心肌

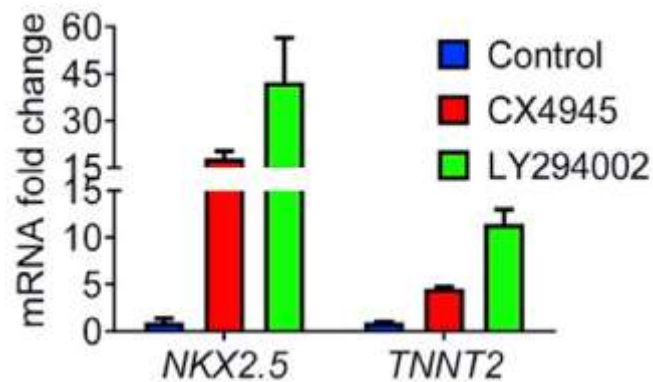


Hoechst/NKX2.5/TNNT2



NKX2.5/TNNT2/DAPI

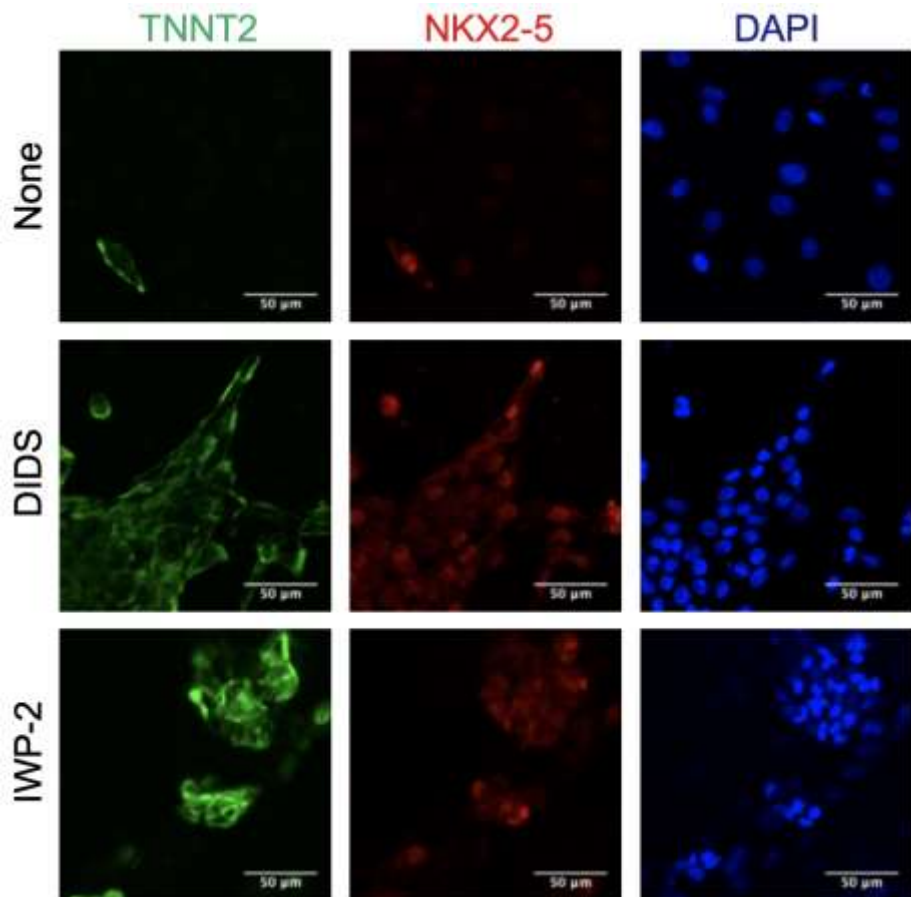
CK2 激酶抑制诱导心肌



# 新型心肌分化方法：ERK5抑制剂、离子通路抑制剂

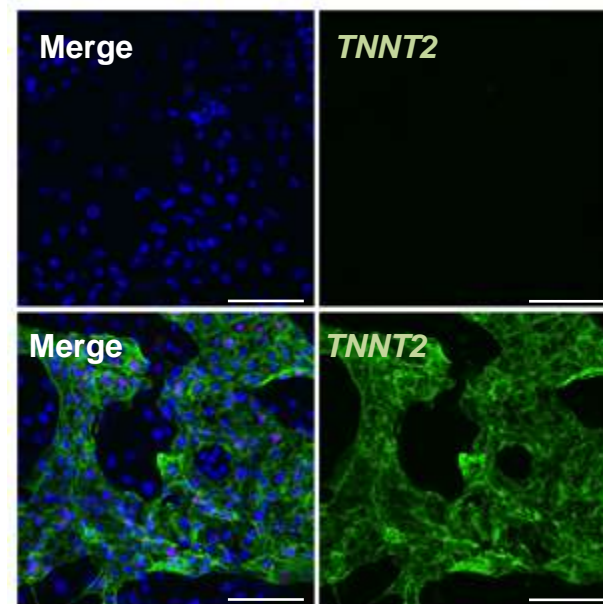
离子通路抑制剂 - DIDS

ERK5抑制剂

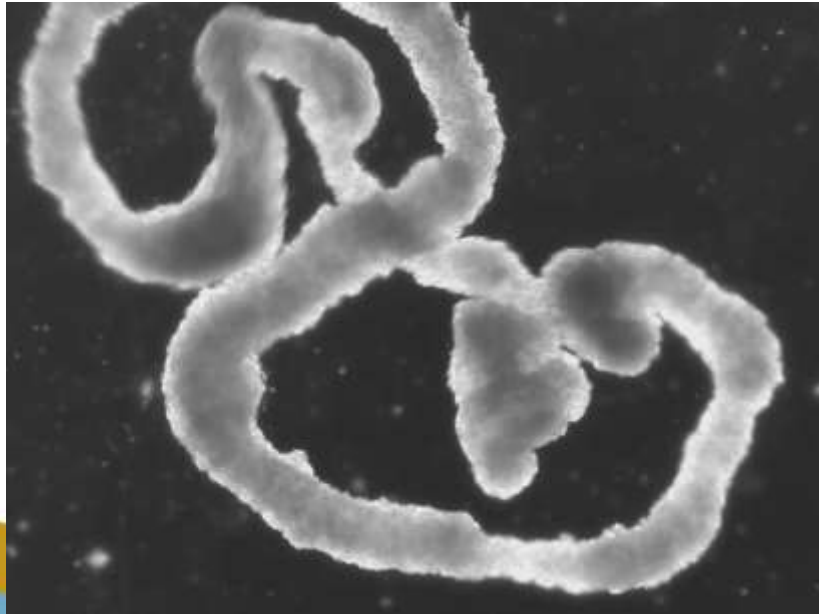
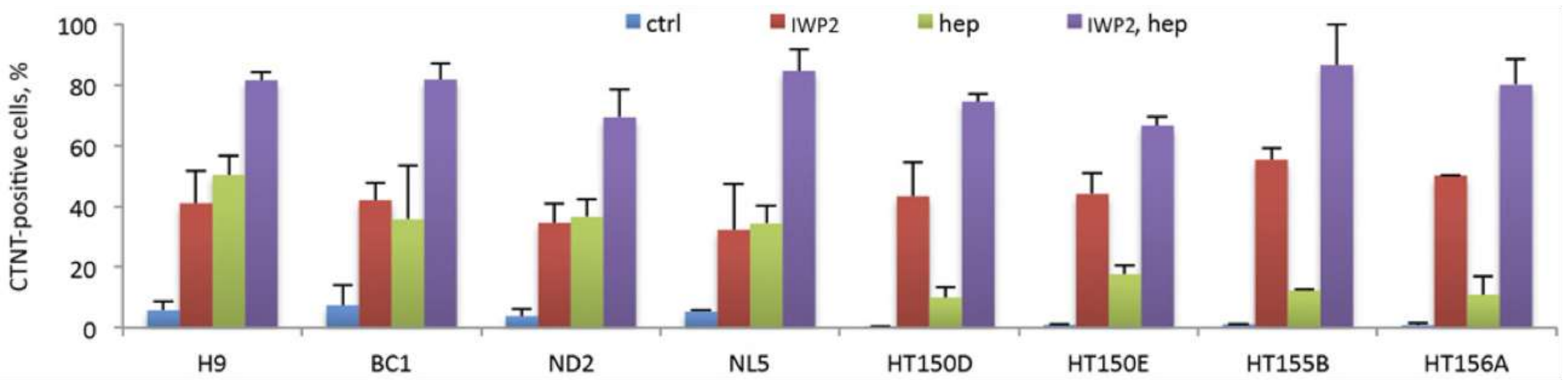


Control

ERK5i -  
XMD892



## 新方法的意义：实现无动物组份的心肌生产 & 降低成本



如果 1升培养基需要 1300 元 B27添加物，  
我們可以用 3 元肝素取代，而且沒有批次效應



# 心肌的分化新方法的積累：由量變到質變

**心肌生產**  
 功能強、質量高、低免疫原性  
 大量穩定生產、可負擔  
 細胞亞類定向生產



**手術臺**



Figure 1: A stack of four Chinese patent application documents (Invention Patent Applications) related to myocardial differentiation methods. The documents are numbered (19) and (12) and include details such as the applicant (Xiamen University), the inventor (Liu Jie), and the patent agent (Chengde Law Firm). The documents describe methods for differentiating pluripotent stem cells into myocardial cells, including the use of specific growth factors and culture conditions. The bottom document includes a summary and a bar chart showing the efficiency of the differentiation process.

Figure 2: A bar chart showing the efficiency of myocardial differentiation. The x-axis represents the number of cells (10^4) and the y-axis represents the number of differentiated cells (10^4). The chart compares the efficiency of the method described in the patent (Patent Method) with a control method (Control Method). The Patent Method shows a significantly higher efficiency, reaching approximately 10^6 cells per 10^4 starting cells, while the Control Method reaches only about 10^4 cells per 10^4 starting cells.



澳門大學  
 UNIVERSIDADE DE MACAU  
 UNIVERSITY OF MACAU

# 技術發展佈局

无动物源的心肌  
细胞分化方法建立

近期

功能验证  
和毒性检验

建立大规模  
细胞生产方法

心肌細胞  
對藥物的反應

中期

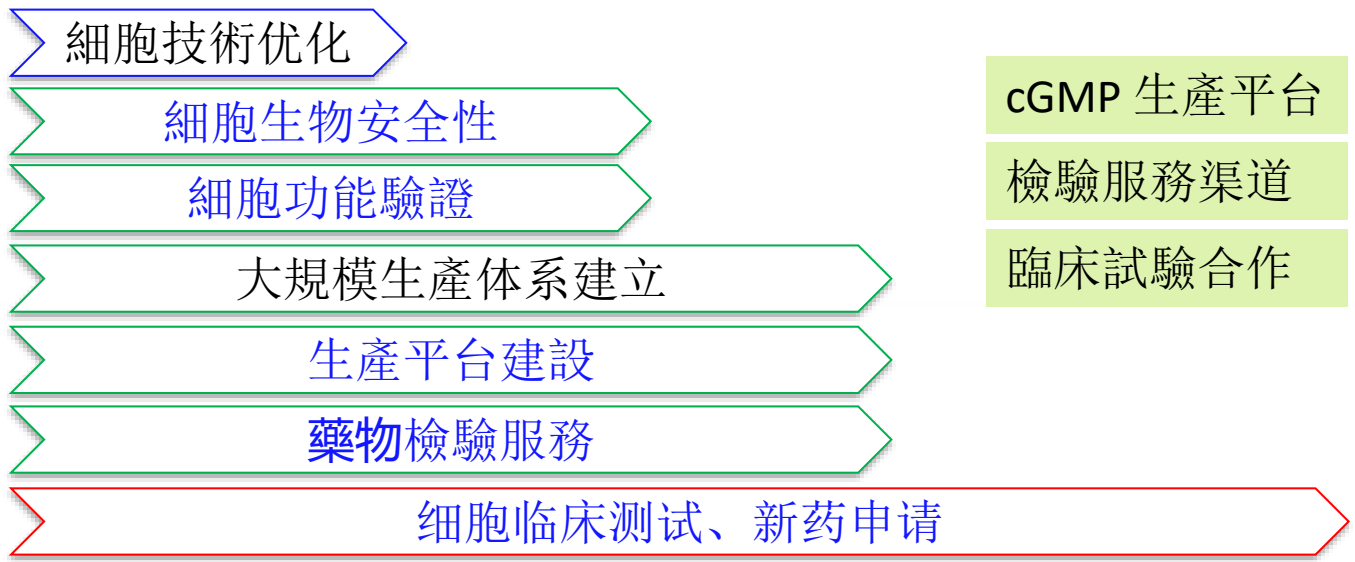
心肌細胞治療

藥檢模型

長期

>16億美元 + 23億美元

最大的技術特點：當前最高效定向分化的無動物組份心肌生產



# 谢谢!



## 聯繫人：

澳門大學

陳國凱（項目負責人）

電話：+853-88224985

珠海澳大科技研究院

鄧春浩（博士後）

電話：13824135521



扫一扫，立即添加为好友。



扫一扫，立即添加为好友。



科學技術發展基金

F | D | I | C | I | T



澳門大學  
UNIVERSIDADE DE MACAU  
UNIVERSITY OF MACAU