

出國報告(出國類別：博士班進修)

胚胎幹細胞之分化及其未來臨床應用

服務機關：國防醫學院三軍總醫院

姓名職稱：林煊淮、主治醫師

派赴國家：英國

報告日期：101年8月01日

出國時間：97年8月15日至101年7月26日

摘要

台灣民間傳統的觀念，死後要保留全屍，以至於器官捐贈的風氣一直無法建立，使得需要器官移植的國人，往往比國外的患者多花數倍的時間在等待所需之器官，甚至有一大部份的患者因等不到適合的器官而喪失寶貴的生命，亦或在等待器官的過程中面臨疾病的痛苦折磨。然而胚胎幹細胞提供了一個可能的來源以供移植，因其可於體外大量複製，且能分化成人體各種細胞，例如移植人類胚胎中分泌多巴胺之神經細胞至巴金森氏症重症患者，可改善病人的症狀及增進生活品質，然而人類胚胎得來不易，往往有道德及宗教上的疑慮，且移植一位病患需要數個胚胎，因此此類治療方式無法普遍。近年來隨著胚胎幹細胞的研究發展，使用人類胚胎幹細胞可大量生產分泌多巴胺之神經細胞，於動物實驗中已證實移植胚胎幹細胞分化之分泌多巴胺的神經細胞至患有巴金森氏症的小鼠，可改善實驗動物的症狀。

然而胚胎幹細胞要實際應用於臨床上，仍需要克服幾個難題，首先以目前現有的分化模式尚無法取得單一種細胞，另外這些分化後的細胞是否可穩定的存在於人體也是未知，如這些細胞不穩定，可能造成細胞死亡或者不斷分裂產生腫瘤。而要解決這些問題首先要清楚了解胚胎幹細胞分化的機轉，進而使得我們可以得到大量單一種細胞以供移植之用，也可避免細胞再度去分化形成腫瘤。

關鍵詞：胚胎幹細胞、分化、移植

目次	
摘要.....	.2
本文.....	.4
目的.....	.4
過程.....	.6
心得與建議.....	.8
附錄.....	10
共 10 頁	

本文

一、目的

職於民國八十九年畢業於國防醫學院隨即分發至基層部隊服務，九十一年完成部隊基層服務後，返回三軍總醫院接受內科專科醫師訓練，受訓期間有感於台灣是B型肝炎流行的區域，於臨床服務時遇到許多慢性B型肝炎的患者，有些因急性發作導致肝衰竭，有些因長期發炎導致肝硬化，甚至產生肝癌，但目前能為病患做的仍然有限，於是我選擇了肝膽胃腸科作為我除軍職以外的終身職志，寄希能找到新的治療方式來改善病患的生活。進入科內後於本科師長們的熱心教導下，得以學習到知識及消化道內視鏡之技術，用以照顧病患，但隨著接觸越來越多肝硬化的病人後，發現目前的醫學知識以及自己能為肝硬化病人做的事非常有限，在一次國際會議上，恰巧聽到有關幹細胞將來有可能應用於臨床上來幫助肝硬化的病人。

幹細胞相關的研究近來有許多突破性的進展，從早期研究的間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cells) 到近期較熱門的胚胎幹細胞 (Embryonic stem cells) 以及誘導性多功能幹細胞 (Induced pluripotent stem cells) 都已被證明為多潛能性幹細胞，可分化成多種成熟細胞，如肝細胞 (Hepatocytes)、神經細胞 (Neurons)、心肌細胞 (Cardiomyocytes)、及胰臟細胞 (Pancreatic cells) 等。另外幹細胞具有增殖及自我更新 (self-renewal) 的能力，所以可以不斷的複製分裂，於實驗室內可被大量的分化成不同的細胞，如此可提供各種細胞以供移植之用。然而幹細胞要實際應用於臨床上，仍需要克服幾個難題，首先因為詳細的分化機轉仍然未知，所以以目前現有的分化模式尚無法取得單一細胞，另外這些分化後的細胞是否可穩定的存在於人體也是未知，如這些細胞不穩定，可能造成細胞死亡或者不斷分裂產生腫瘤。而要解決這些問題首先要清楚了解幹細胞分化的機轉，進而使得我們可以得到大量單一細胞以供移植之用，也

可避免細胞再度去分化形成腫瘤，因此欲增進幹細胞臨床運用的可能性，清楚的了解幹細胞分化的機轉相形極為重要。有鑑於此，爲了本院能在幹細胞的臨床研究上占有一席之地，且幹細胞亦是我國積極發展的重點科技，所以我開始研讀相關文獻，並計畫朝此一目標繼續深造研究。

二、過程

職於民國九十六年中開始查詢幹細胞相關研究機構，並於次年（民國九十七年）通過網路與倫敦大學國王學院的老師交談，並取得學校入學許可，於民國九十七年八月一十二日啓程，前往倫敦開始博士進修之途。

方到倫敦的第一年感到極大的文化衝擊，首當其衝為語言問題，國內英語教學一向走美式發音，但英式英語在發音及習慣性的用語與美式英語有著極大的差異，因此一開始的前幾個月幾乎聽不懂別人在說些什麼，無法與其他學生及工作人員交談，而導致學習與生活上的障礙，約半年後才漸漸適應。另外前半年實驗也不太順利，起初所設定的目標都無法達成，在心灰意冷之際所幸有指導老師及前期出國進修學長蔡宗能醫師的協助，慢慢的有找到實驗的方向，且有得到一些不錯的結果，順著實驗的進展並於第三年將成果發表於國際期刊上。在求學的四年間，面對生活上大大小小的挫折，幸而有家人的支持，才能順利完成學業。

求學期間主要研究基因 Nnat 在胚胎幹細胞分化中所扮演的角色及其作用機轉，首先從過去發表的文獻中得知，Nnat 大量表現在胚胎發育的過程中，在發育完成後其表現立即轉弱，甚至在成熟的個體幾乎不太表現，而胚胎中也主要表現於神經幹細胞中。胚胎幹細胞培養在無血清的培養液中可分化成神經細胞，在這分化的過程中我們發現 Nnat 的表現逐步上升直到成熟的神經細胞生成時，當我們將 Nnat 的表現大量抑制之後，胚胎幹細胞分化成神經細胞的能力立即被抑制下來，相反的當我們將 Nnat 的表現人為的增強後，神經細胞的生成的數量增加三倍，可見 Nnat 在胚胎幹細胞分化成神經細胞的過程中扮演重要的角色。然而 Nnat 的作用機轉未明，從過去發表的文獻中得知，Nnat 蛋白質結構與另一個調控細胞內鈣離子濃度的蛋白相似，所以我們猜測 Nnat 的功能可能也是在調控細胞內鈣離子濃度，然後我們以

免疫沉澱法 (Immunoprecipitation) 證實 Nnat 蛋白與內質網上的鈣離子幫浦有直接的接觸，且當 Nnat 表現增強後，細胞內鈣離子濃度高於 Nnat 的表現大量抑制之後，所以 Nnat 可能經由抑制內質網上的鈣離子幫浦，進而增加細胞內鈣離子濃度。進一步我們也發現增加細胞內鈣離子濃度可活化 Erk，然後促使胚胎幹細胞分化成神經細胞。

職希望能將此一基礎的研究將來可應用於臨床上，藉由胚胎幹細胞分化成更多更穩定的神經細胞，以利移植所需並造福病人，且對國內相關產業之發展，給予些微之幫助。

三、心得及建議

職於出國進修前，曾經思考過如果能夠將出國學習的成果與技術轉換成將來回國後臨床的應用，但隨著前半年實驗的失敗與挫折，慢慢體會與了解醫學研究與技術是需要不停的學習之路，經由指導導師的專業教導，發現實驗過程中了解每一個研究成果，都是需要經驗一步步緩慢累積起來，四年的國外博士班學習，讓自己獲益良多，增加許多學習與研究技巧，也了解研究的設計與構想在經過與來自不同社會文化、教育背景、及生活素養的人討論，往往得到不同的見解與看法，也因此了解與感受到自己思考模式過於狹窄，未能跳出自己的框框從不同的角度來思考問題，有幸獲得此學習機會，必須感謝國家與各級長官所給我的機會與支持，更感謝腸胃科謝財源主任與科內同仁們的全力鼓勵，讓自己能有機會出國進修深造，接觸到不同的文化，學習多方面的知識及技術，並增加國際觀，且希望能將所學回饋與國家與母校。

我的博士班進修初期，因為文化與語言隔閡，學習過程並不順遂，前半年的實驗過程因此也不如預期，建議將來想要出國進修的同仁在出國前先加強語言能力，如在英語的聽、說、讀、寫上至少要達到一定程度，溝通上才能減少障礙，另外也要了解當地民俗風情，如此才能融入當地文化，以利縮短進修初期的適應時間，讓學習過程更加順遂。

國外物價高於國內許多，許多大城市花費更為驚人，職一開始隻身前往倫敦，因考慮生活費有限，所以承租廉價單人房，如此國家的補助與生活費用剛好打平，初期生活穩定後因為維持家庭完整性，也希望能有家人相互扶持，所以將眷屬也接到倫敦，然而攜帶家眷，生活花費更為驚人，常有入不敷出，許多同仁更因為高昂的生活費用選擇貸款，造成莫大的經濟壓力，為了減少生活開銷困擾，間接影響學習過程，故職等建議，是否能給予攜家帶眷的同

仁適時生活補助，減輕經濟壓力，專心致力於研究以增加學習效益。

最後博士班學習期間與臨床訓練之最大的不同，在於博士班的內容完全是基礎科學，這方面的知識是臨床醫師最缺乏的，也因此臨床醫師的研究往往只是流於表面，而無法深入到機轉的部分，如果國防醫學院的可以多開這方面的課，然後開放臨床醫師旁聽，相信可以增加臨床醫師研究的深度，亦可加強臨床醫師與基礎老師的合作，以提升本院的研究水準。

附註論文

1. **Lin, H. H.**, Bell, E., Uwanogho, D., Perfect, L. W., Noristani, H., Bates, T. J., Snetkov, V., Price, J. and Sun, Y. M. (2010). Neuronatin promotes neural lineage in ESCs via Ca²⁺ signaling. *Stem Cells* 28, 1950-60.
2. Sun, Y. M., Cooper, M., Finch, S., **Lin, H. H.**, Chen, Z. F., Williams, B. P. and Buckley, N. J. (2008). Rest-mediated regulation of extracellular matrix is crucial for neural development. *PLoS One* 3, e3656.
3. 林煊淮. (2012). Investigating the role of Neuronatin in neural development. 博士論文.