

出國報告(出國類別：短期進修)

哈佛大學附設加斯林糖尿病中心
(Joslin Diabetes Center) 之
學習心得與生活經驗分享

服務機關：國防醫學院三軍總醫院

姓名職稱：蘇聖強、主治醫師

派赴國家：美國

出國期間：105年8月30日至106年8月29日

報告日期：106年9月07日

摘要

在繁重的臨床工作與教學的重擔之下常會使得一位醫師漸漸地消磨其心志與原本對於醫學熱愛的心，於是在因緣際會以及科內主任與同仁的支持下好不容易爭取到出國短期進修的機會，便聯繫上任職於美國麻州波士頓哈佛大學附設加斯林糖尿病中心(Joslin Diabetes Center)的曾玉華老師並在其同意之下遂於民國 105 年 8 月 30 日出國並抵達美國開始了我一年的短期進修生活。在一開始的不適應以及凡事都不熟悉並常常犯錯的情況下，漸漸地在每次的失誤中領悟到基礎實驗的設計、執行、確認、品管、分析以及結果整合的方法；同時也習得在頂尖實驗室中與國際的學者們有效地溝通與討論，並對於實驗室的運作以及硬軟體的運用有進一步的體認。此外也參與了臨床見習認識到美國臨床醫療的照護以及與病人溝通的方式來加強對於糖尿病的治療以及追蹤。最後從自身的生活經驗認知到對於糖尿病的研究與臨床醫療需與時並進俾利與國際接軌。

關鍵詞：糖尿病 基礎實驗 臨床醫療

目錄

壹、 前言	4
貳、 研究目的	5
參、 研究過程	6
肆、 研究心得與建議	13

壹、前言

肥胖為全球所關注之公共衛生議題，更是先進國家重要的國民健康問題。依據相關越來越多的研究與證據顯示肥胖將誘發身體免疫機能失調與相關後續大小血管的併發症，甚至增加癌症發症的機率，將在未來不久形成為國家重要的危害因子。因此對於肥胖的治療甚或是預防的相關基礎與人體研究將是刻不容緩的，所以除了在國內積極地與各大醫學中心合作研究外，更希望至歐美頂尖的研究中心進修學習目前國際間最先進的科技與新知甚至是研究肥胖的實驗技術，來應用在國人身上造福國家社稷。再加上最近的肥胖治療研究中顯示脂肪細胞代謝機制及棕色脂肪細胞產生機轉的研究日新月異，需派赴國外知名學術單位(如美國哈佛大學)學習國外相關新知及技術，造福國軍官兵及眷屬健康。

貳、 研究目的

研究白色脂肪細胞病變發生時所牽涉的分子生物機轉，並深入棕色脂肪細胞於臨床治療上的運用，除了進一步了解肥胖發生的原因與最初的病變過程外，更能轉譯到臨床上治療的應用與相關藥物的研發。

參、研究過程

一、研究過程摘要：

從 9 月初抵達波士頓後便開始進行一連串的行政作業程序，包括哈佛國際學生事務部的報到、Joslin 的報到以及線上課程學習以及新進人員講習，整個程序好不容易在 9 月中左右完成才正式進入曾老師的實驗室中學習。同時在 9 月初的這段時間也忙著打理找房子住宿、打掃環境以及完成水電、瓦斯、電信以及銀行相關雜務還有完成與駐美軍事團的聯繫與回報，所以等靜下心到實驗室已經是赴美 2 周後的事了。曾老師的確不愧是哈佛的副教授，不僅中文好，英文造詣也頗高，讓我在實驗室的學習不僅習得基礎實驗的技巧，更能增強我外語溝通的能力以及書寫的文筆。曾老師另外特別指示她的實驗室中最資深的 postdoc, Matt 博士來負責當我的 mentor。從一開始整天坐在實驗室辦公桌前研讀 paper 的感覺” I felt bored everyday” 到後來已經是” I feel tired everyday”。每天都很累的原因是我的英文只有考試好但是日常會話實在是很吃力，除了每周一次曾老師個別一小時會談全程英文對話外，平時與實驗室同仁也必須開啟所有感覺神經來了解他們到底在說甚麼以及我被交代要做甚麼。曾老師的實驗室目前加我共九人，一位是中國大陸籍的 Lian 跟了老師多年目前擔任實驗室的管理者，經了解她以前是婦產科醫師後來隨著丈夫赴美便長期定居並在 Joslin 工作；一位是 Matt, 博士後 4 年了跟著曾老師，目前已有一篇文章發表於 Nature Medicine，而協助該文章的發表的工作也是曾老師交代我要負責幫忙的第一件計畫，所以我一直忙於 WT-1 preadipocyte 的分化實驗以及曾老師團隊發現的 novel lipokine, 12, 13-diHOME (majorly secreted from brown adipocytes) 對於棕色脂肪細胞內 ucp-1 活化作用機轉的深入探討；另外曾老師也交代第 2 件計畫是老鼠實驗，主要是研究特異分子的抗體是否可以藉由抑制 meta-inflammation 而延緩糖尿病產生，所以目前有兩種老鼠同時進行中，分別是利用 NOD mice 以及 DIO mice 代表著 type 1 DM 以及 type 2 DM 來進行藥物注射看 18 周後的反應。在整個基礎研究的進行中，曾老師特別強調每個過程中必須對於實驗中發生的各種現象予以詳加記錄並登載於線上系統，即所謂的實驗室電子線上日誌的撰寫與完成。最後在進修結束前 2 個月左右將安排在大實驗室會議中進行研究進度報告並進行分析檢討，而在返國前 1 個月左右才可利用時間申請

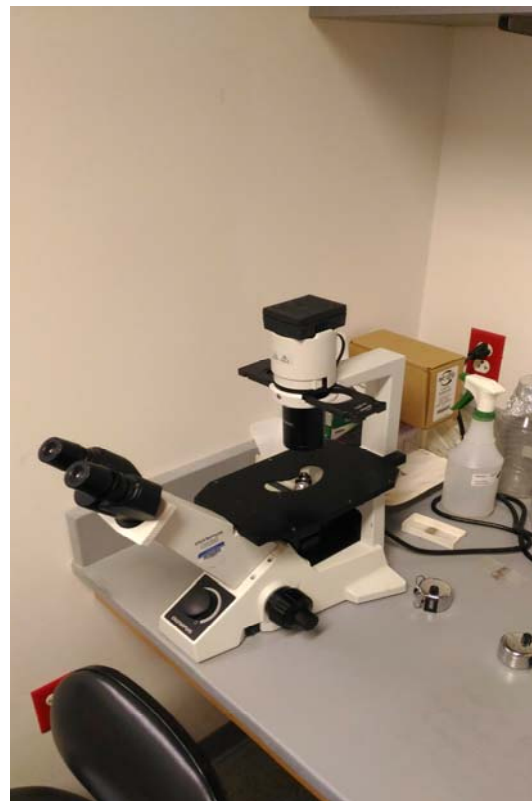
至加斯林中心的臨床醫療單位來進行學術參訪與見習。

二、加斯林第一實驗：研究 12, 13-diHOME 此脂肪激素(lipokine)對於棕色脂肪細胞的生理現象

職首先進行的便是針對由初生 B6 老鼠中兩側肩胛骨中萃取出來的棕色脂肪前驅細胞(WT-1 cell)進行相關藥物治療後所涉及訊息傳遞過程及交互作用之研究。由於先前曾老師的研究已發現 12, 13-diHOME 會促使棕色脂肪細胞加強對於血液中游離脂肪酸的吸收與利用而且會涉及到 CD36 以及 FATP1 此兩脂肪酸通道的調控,故交付職的首要任務便是針對此現象做進一步探討,而職所使用的相關實驗室以及工具如下圖一與圖二所示:



圖一：細胞實驗操作台



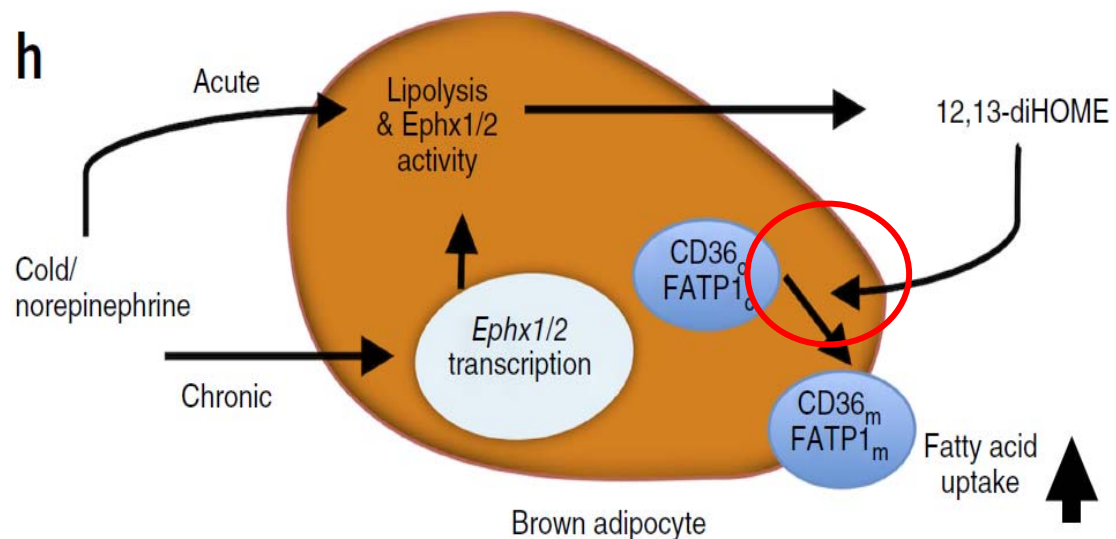
圖二：倒立顯微鏡

另外相關的培養液加溫槽以及細胞培養所需之離心機則如圖三所示：



圖三：左側為離心機而右側則為加溫水槽

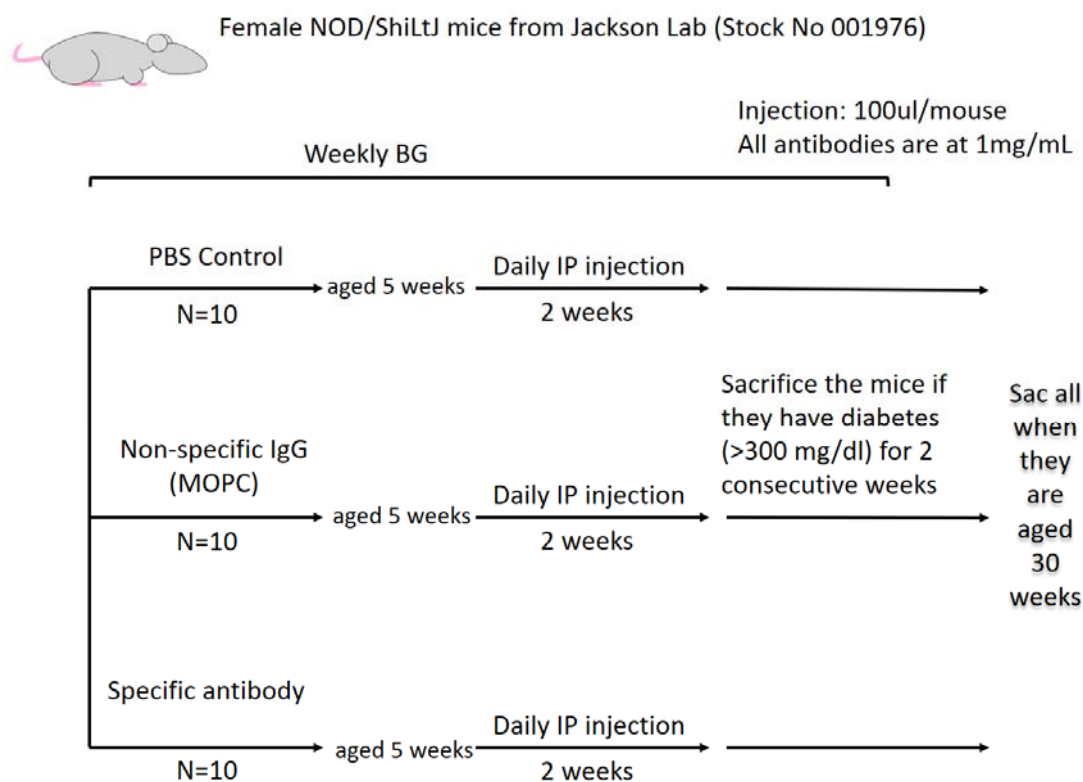
在進行正式實驗前並須將 WT-1 cell 進行分化並須為時 9 天的過程，同時在過程中並須隨時注意相關細胞生長情形並加以記錄；另外也同時進行 WT-1 cell 的繼代培養以作為後續重複實驗所必須。在確定前驅細胞均已得到完全分化後，此時給予這群細胞不等濃度的 12, 13-diHOME lipokine 的刺激來觀察後續的變化，同時也給予 DMSO 來作為對照組以及 negative control。相關實驗設計概念如圖四所示：



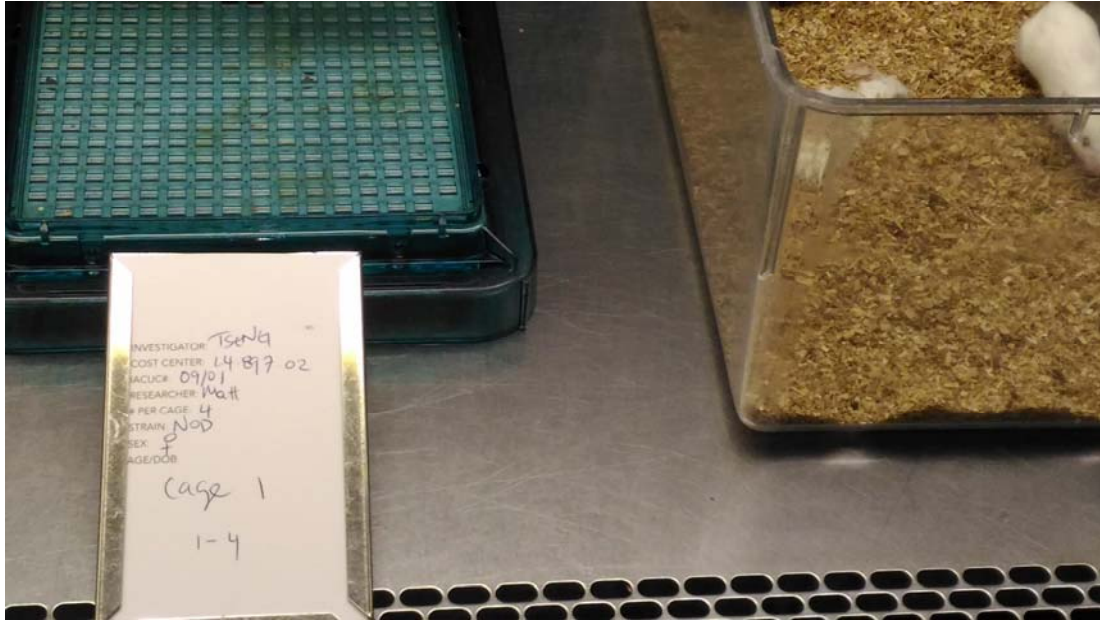
圖四：此圖選自 Nature Medicine 23, 631 - 637 (2017)，職主要是針對紅圈部分所涉及的分子訊息傳遞來做進一步探討

三、加斯林第二實驗：針對具有抗 T 細胞過度免疫反應的抗體是否可以預防第一型糖尿病甚至是治療第二型糖尿病使其代謝性發炎緩解

由於第一型糖尿病目前已知與 T 細胞過度免疫反應造成β細胞的死亡是息息相關的，故我們嘗試使用已在發炎性腸道疾病證實有緩解過度發炎的抗體來應用在動物模式上，觀察是否在接受適量適度的治療後能預防第一型糖尿病的產生。於是我們選用了本身會自行產生第一型糖尿病的 NOD 小鼠來利用其在 4-6 周時會自行開始產生自體免疫反應破壞β細胞的基因型特性來執行職的研究；也就是在小鼠 5 周左右便先開始進行注射抗發炎的抗體兩周後持續追蹤不同組別間的小鼠血糖以及最後胰臟組織學的變化，詳細實驗設計如下圖五所示而相關 NOD 小鼠的選用則如圖六所示：

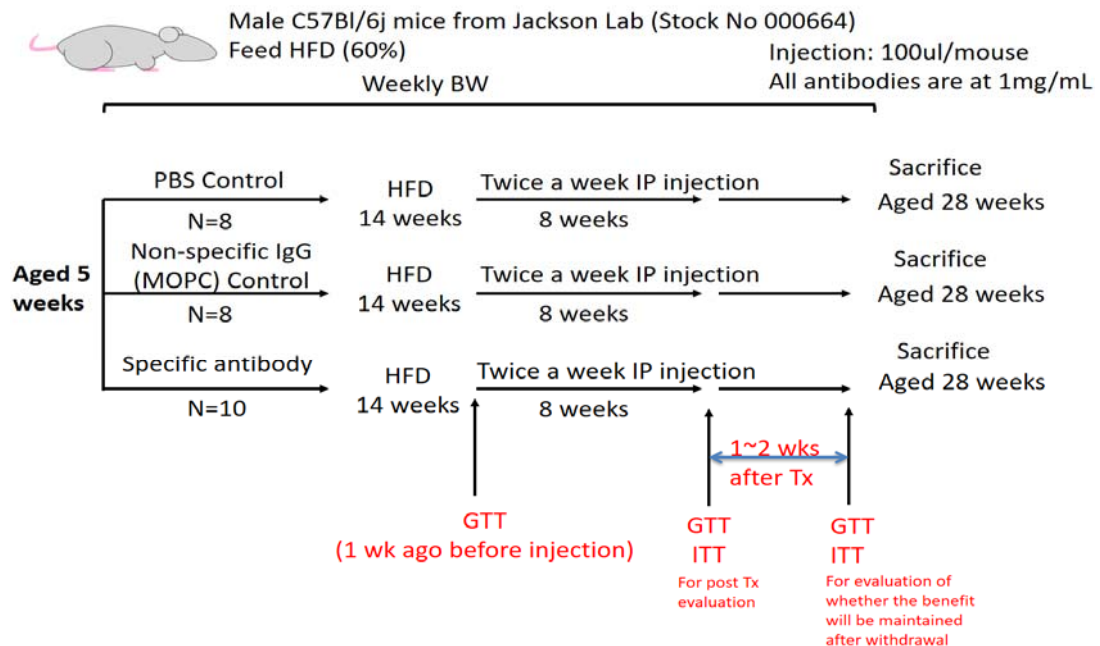


圖五：將 NOD 小鼠分成三組，分別是 negative control 組別即只注射 PBS、isotype control 組(注射非專一性的抗體)以及注射專一性的抗體，最後再比較三組之間的血糖以及最後組織學上的差異。



圖六：選用 NOD (non-obese diabetes) 的母小鼠來進行第一型糖尿病的研究

除了第一型糖尿病的預防研究外，我們更希望能針對第二型糖尿病來做相關治療性的研究。由於第二型糖尿病的致病機轉與肥胖以及胰島素阻抗性息息相關，職選用了給予高脂肪含量的飼料餵食的 B6 小鼠來做後續實驗的進行，相關實驗設計如圖七以及所選用的小鼠如圖八所示：



圖七：一開始將所有的 B6 公小鼠均給予持續 14 周的高脂肪含量飼料的餵食後進行第一次的葡萄糖耐受性試驗來驗證這群老鼠均已出現糖尿病或是肥胖後開始進行八周的專一性抗體的治療直到治療結束後進行治療後評估，也就是第二次葡萄糖耐受性試驗以及胰島素耐受性試驗來做驗證治療在這三組的成效，之後過 2 周後再執行第三次葡萄糖耐受性試驗以及第二次胰島素耐受性試驗來觀察此治療的效過是否有延續之效。



圖八：選用經高脂肪含量飼料餵食的 B6 公小鼠來進行第二型糖尿病的治療性研究

由於加斯林動物中心的相關規定，職所進行的各項研究均在動物中心內完成並花費不少時間來熟悉相關儀器操作以及硬體設備的使用，如圖九所示；而 B6 小鼠則分批進行相關試驗的檢測如圖十。



圖九：動物中心內檢查操作台相關設備



圖十：準備進行實驗的 B6 小鼠，其體毛是黑色，由於吃了大量高脂肪含量的飼料故皮毛均呈現油亮狀

肆、研究心得與建議

一、他山之石，可以攻錯

加斯林中心實驗室使用的電子線上實驗室記錄日誌 (Electronic Laboratory Notebook, ELN) 相當好用，不僅可以有系統性地登錄自己的實驗數據，更可整合已上傳資料俾利於將來資料的判讀。由於是線上作業，指導教授亦可藉由系統來綜觀實驗時所有成員的實驗進度與相關數據並給予適當的評論與未來實驗著重的方向；更重要的是若自己的實驗數據與結果一旦按下送出鍵後便無法再修改，如此可確保自己的實驗成果以及佐證自己實驗的原創性、此外該系統亦可依據個人設定來決定已送出的數據資料是否開放給其他研究員分享或參考，是十分好用的實驗室記錄保存與運用的系統設計。

二、醫學的初心在於造福人群

研究的重心是在於從微觀面來根本解決臨床上人體發生的疑難雜症，同時自己也在這學問研究的過程中有了新的體認與領悟到對事物不同層次的想法。在進行細胞實驗時發現到生命真是有其奧妙之處，一個個顯微鏡下的細胞經由不同藥物不同濃度的治療下就會產生細微不一致的變化，因此需要實驗者細心定時的照護與關懷，這就彷彿像是在臨床上對於病人的照顧態度；另外在老鼠實驗的過程中才知道生命的可貴與深思人類何其有幸能在先進的醫療中享有優於萬物的治療。光是驗證一項實驗中的假設就必須進行多次的重複確認，而在這過程中我發現到自己飼養幾近半年的老鼠們在默默中一一地為人類犧牲牠們的生命並奉獻牠們的身體各部位器官組織以作為醫學進步之根基；光是我進行的實驗只研究機轉一次就犧牲了共 60 隻老鼠寶貴的生命，更何況是一藥物的研發與臨床運用背後是多少生命的奉獻才能達到，怎麼會不讓人省思現今醫療的珍貴？而對於國內醫療資源因健保設計的不完善以及民情關係而造成的浪費更是值得我們進一步深思與反省的。

三、臨床醫療與基礎研究實為密不可分

在這為期一年的進修時間中更發生了一件大事讓我深刻體認到目前醫學上對於糖尿病的治療與照護仍有無力與無奈之處。曾老師實驗室的行政祕書 Alison 的小兒子是第一型糖尿病的患者長期在 Joslin

接受良好的治療與照護，而也正因為這原因使得 Alison 決定在 Joslin 長期服務，除了希望就近照顧小孩更希望能在第一時間見證對於糖尿病研究的突破與新藥的研發。然而細心呵護的小兒子大學剛畢業後沒多久卻因為低血糖昏迷而後送至鄰近 Joslin 的醫學中心並住進加護病房。病況極不樂觀雖然我們實驗室成員們多次訪視，遺憾地最終 Alison 在於醫療團隊溝通討論後決定讓他有尊嚴地離世。在這事件中給我很大的感觸便是第一型糖尿病患者的照護雖然有 insulin pump 以及 monitor 等先進醫材的運用，但對於相關糖尿病的併發症如常見的低血糖仍有未盡之處。而且低血糖的發生率與嚴重度亦超出我想像的，既使在美國如此先進醫療的國家中對於這樣的遺憾之處也無法完全消弭。這同樣也常見在第二型糖尿病患者的照顧中許多患者因懼怕低血糖而拒絕積極地控制血糖或是無法完全遵照醫囑來有效穩定的控制糖尿病；然而一旦積極控制血糖卻又無法避免會有低血糖產生的疑慮，我想這就是身為內分泌醫生需要積極努力的地方來避免如上憾事一再地發生。鑑於此，在基礎實驗進行到一定段落時，在徵得曾老師同意後我連絡上 Dr. William Hsu，希望能到他的診間進行臨床見習。在得到其允諾後至其診間跟診外並至衛教室診間跟著衛教師在旁觀看見習對於各種病人之不同衛教方式；有趣的是，這些在國內在熟悉不過的飲食與運動衛教，在這全部是用英文來表示且以不同的飲食習慣或文化來進行。這也再次提醒我針對不同類型的以及不同文化的病患必須以不同方式與不同思考的糖尿病衛教才能達到事半功倍之效，否則就不能稱為真正糖尿病的照護與完善的治療。

四、短期進修的目的在於充實見聞並養成對於研究積極進取的心

由於此次的進修只有申請到一年的時間實在無法進行廣泛性全盤的研究，故一開始曾老師便與職討論可進行其實驗室正在進行的研究同時也可進行動物實驗來驗證從基礎細胞學的實驗所獲得之結果。過程雖然辛苦且語言溝通不時發生障礙，但是只要學習心態對了所有的問題均能迎刃而解。主要是在實驗中須時時秉持著大膽假設小心求證的心態外，更要堅持著對於實驗各項結果的誠實態度以及追求真實的心，如此才能成為負責任的科學家，也才能將所研究的成果真實地公布在大家面前並提供醫學上各方面的新知。最後職順利獲邀參加加斯林年度舉辦的晚宴並獲贈短期研修的證書，並在會議中與相關知名國

外學者暢談相關學問並由胰島素受體相關基礎研究的大師 C·羅納德·卡恩醫學博士手上接獲證書實在是令人難忘。相關圖片如圖十一、十二以及圖十三：



圖十一：職獲頒加斯林糖尿病中心研究部門認證進修證書



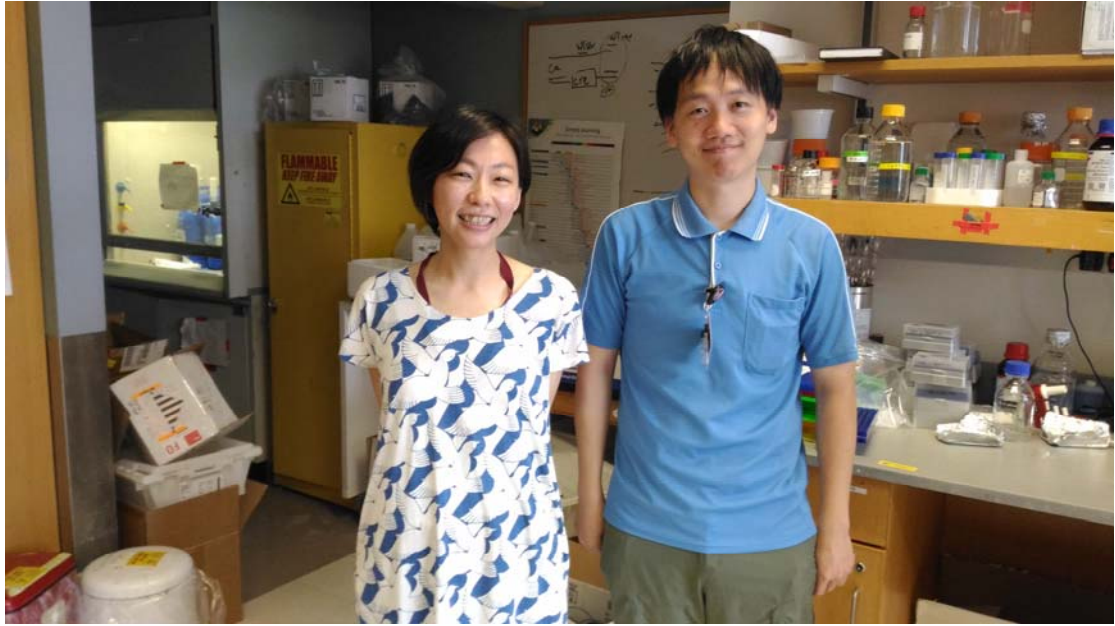
圖十二：參加加斯林年度正式晚宴的照片。圖左至右依序為 Matt 博士、筆者、巴西博士後學者 Luiz、陽明大學生化博士王志豪夫婦



圖十三：職從 Kahn, C. Ronald, M.D 該位研究胰島素相關基礎研究的大師手上接獲短期進修證書

五、結論

此次短修之行雖然是著重在基礎研究，但事實上跟臨床醫學是緊密相關的。在曾老師的實驗室內雖然自己是身為臨床醫師但與其他國內外知名的學者一起共事上一點都不突兀，反而可以互相討論彼此的專業並交換相關研究的心得。做實驗雖然辛苦，但是當結果出來的那一瞬間再怎麼辛苦都值得了，尤其是當結果符合預期假設時更是令大家高興的歡呼了。很感謝國防部、軍醫局、國防醫學院、三軍總醫院各級長官以及內科部與內分泌新陳代謝科老師們與同仁們這一路上的支持與協助，因為大家齊心的幫忙才能讓職順利地出國進行短期進修。最後也很謝謝曾玉華老師的耐心指導與原諒職在進修過程中犯了不少錯誤，衷心地感謝。相關圖片如圖十四與圖十五所示：



圖十四：職與曾老師實驗室中日本小兒牙醫 Sato 博士(圖左)合照



圖十五：曾老師實驗室於國防醫學院賈淑敏教授參訪時合照。第一排由左至右依序為伊朗學者 Farnaz 博士、日本學者 Sato 博士、台灣學者王志豪博士、哈佛醫學院醫學生、曾玉華教授、賈淑敏教授、助理 Alison；第二排由左至右依序為筆者以及 Matt 博士。