

出國報告（出國類別：進修）

基因分子診斷於兒童神經疾病臨床 與學術研究之應用

服務機關：國立臺灣大學醫學院附設醫院

姓名職稱：翁奴謹醫師

派赴國家：美國

出國期間：106年8月21日至107年8月20日

報告日期：107年10月30日

摘要

兒童神經肌肉疾病是因為基因變異所導致，若能了解基因變異所導致疾病的機轉，將可以藉由調控基因表現，改變未來神經肌肉疾病的臨床治療，也是本次的進修主題。本次進修機構為全美排名第二的辛辛那提兒童醫院醫療中心 Cincinnati Children's Hospital Medical Center (CCHMC)，指導教授為專長於強直性肌肉失養症基因分子機轉研究的 Dr. Lubov Timchenko。此次進修很幸運可以同時在臨床與基礎研究都有所涉略，在基礎研究部分完成研究抑制 GSK3 β 在 DM1 病人細胞產生的影響與可能的治療機轉，此部分的結果將有助於未來藥物的開發，幫助更多的病人，也促成跨國的合作。在臨床參訪部分，雖然美國的國情文化與保險制度跟台灣有許多的差異，但這樣的醫療環境，是更有利於醫師的專業發揮與醫病關係的改善。本次出國進修獲益良多，很感謝有這樣的進修機會，未來可以將所見、所學回饋於台灣的兒童神經肌肉疾病，持續為臺灣的醫療進步貢獻一份心力。

目次

摘要.....	0
目的.....	1
過程.....	2
1. 進修背景與機構介紹.....	2
2. 兒童神經肌肉疾病的基因分子基礎研究	4
3. 兒童神經肌肉疾病的臨床參訪與學術活動	6
心得與建議事項.....	10

目的

兒童神經疾病是一個不斷在進步的領域。許多的兒童神經疾病包括兒童神經肌肉疾病是因為基因變異所導致，雖然這些疾病目前無法根治，但若能了解基因變異所導致疾病的機轉，將可以藉由調控基因表現，來控制或改變兒童神經肌肉疾病的病程，進而改變未來臨床的治療方針。

本次進修的目的，著重於研究基因變異於兒童神經肌肉疾病在基因分子層次的影響機轉，以及如何藉由此基因分子的學術研究來改變與影響未來神經肌肉疾病的臨床治療與照護。

過程

1. 進修背景與機構介紹：

本人此次前往進修的辛辛那提兒童醫院醫療中心 Cincinnati Children's Hospital Medical Center (CCHMC) 為是全美最傑出的兒童醫療中心之一，它位於美國中部俄亥俄州的辛辛那提，而其中的神經科學團隊在神經疾病的領域，無論在臨床服務或學術研究都占有領先的地位，辛辛那提兒童醫院醫療中心擁有最先進的硬體設備，截至本人進修結束前，醫院仍持續的在進行硬體設備的擴建。根據《美國新聞與世界報導》(U.S. News & World Report) 最新發布了 2018-2019 年美國最佳醫院排行榜，辛辛那提兒童醫院醫療中心今年打敗

了美國費城兒童醫院

(CHOP) 晉升為全美

排名第二的兒童醫

院，其中神經科團隊

亦是名列全美兒童神

經次專科排名第二，醫院也因此免費贈送每人一件 T 恤給所有員工包括本人，以資慶祝與紀念。



Ranked in the Top 10 in All 10 Subspecialties



辛辛那提兒童醫院醫療中心在辛辛那提有超過十間的分院，各分院之間都有交通車接駁。本人是在本院進修，本院的臨床部門共分 A 至 F 棟建築物，每棟都會有一個動物代表，神經科所在的部門主要是在 D 棟，代表動物是恐龍(Dinosaur)，也是此次進修主要臨床參訪與學術活動之處。



辛辛那提兒童醫院醫學中心正門



D 棟大樓的代表動物: 恐龍

本次進修的指導教授 Professor Lubov Timchenko 本身是強直性肌肉失養症 (myotonic dystrophy) 領域之領導者。Dr. Timchenko 在強直性肌肉失養症的基因變異造成的分子機轉研究極為專精，其所帶領的實驗室發表多篇文章於國際著名學術期刊。Dr.

Timchenko 的實驗室除了擁有各型強直性肌肉失養症病人的肌肉細胞培養，更有各種強直性肌肉失養症相關的小鼠動物模式。其實驗室位於辛辛那提兒童醫院的 R 棟基礎研究大樓，也是本人研究進修最主要的場所。



2. 兒童神經肌肉疾病的基因分子基礎研究：

Dr. Timchenko 的實驗室設備其實與台灣的實驗室差不多，因為進修這一年主要會進行細胞實驗與動物實驗，所以必須先接受一連串的實驗室安全課程與動物實驗的課程訓練。在實驗室裡我擁有個人專屬的實驗長桌，與專屬的實驗設備(包括微量吸管、電泳設備等都是個人專屬)，這也是我進到實驗室 Dr. Timchenko 教導我的第一件事，她要求實驗室所有的人要用自己的實驗器材，自己的實驗藥劑，不可與他人混用，做不同實驗所用的器材也都必須分開，不可混用，以免研究做不出來，無法釐清問題所在。另外，我所進行的各種實驗方法，第一次一定都是由 Dr. Timchenko 親自帶領我進行，因為她希望我學到最正確的實驗研究方法，即使以前我已經有自己的實驗方法與經驗，她依舊嚴格要求我依照實驗室的作業流程與她教導的方法來進行，才能事半功倍，快速且有效率的累積實驗結果。當她認可我的實驗操作，她就會完全放手讓我自行設計與操作實驗，但她要求我一旦遇到無法自行解決的問題時，必須先找她討論，而不是跟實驗室其他同仁討論。



Lubov Timchenko, PhD

Academic Affiliations

Professor, UC Department of Pediatrics

Phone 513-803-0768

Email lubov.timchenko@cchmc.org

HIGH RES

Hide All

Clinical & Research Interests

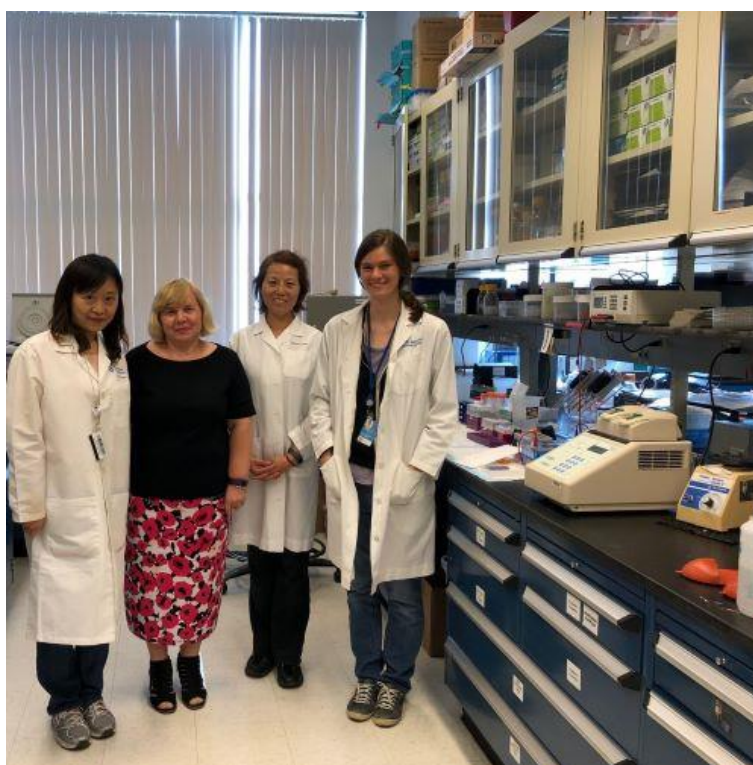
Hide

Clinical

Congenital myotonic dystrophy; adult myotonic dystrophy type 1; myotonic dystrophy type 2; FXTAS

Research

Molecular pathobiology and development of therapies for adult and congenital forms of neuro-muscular disease myotonic dystrophy type 1 and myotonic dystrophy type 2; the role of toxic RNAs containing long repeats in regulation of gene expression; skeletal muscle



實驗室夥伴在本人的實驗長桌前合影

雖然 Dr. Timchenko 的實驗室並沒有最先進的研究設備，但她對基礎研究的嚴謹態度，我想是她可以擁有極傑出研究成果的致勝關鍵，也是我值得學習的地方。Dr. Timchenko 也花了很多時間告訴我，如何帶領主持一個成功的實驗室，真的讓我受益良多。

強直性肌肉失養症主要分成第一型(DM1)和第二型(DM2)，DM1 是第十九對染色體的 DMPK 基因有不正常的三核甘酸(CTG)重複擴充，DM2 則是第三對染色體的 ZNF9 基因有不正常的 CCTG 重複擴充。我主要參與的研究是了解 DM1 的 CTG 重複擴充造成 DM1 的致病機轉，並且藉由其機轉找出可能的治療藥物。根據研究，DM1 與 DM2 被認為是屬於 RNA 相關疾病 (RNA-mediated diseases)。正常的 DMPK mRNA 會很快的 degrade，但不正常的 CTG 重複擴充會造成此突變的 DMPK 基因轉錄的 DMPK mRNA 無法被正常 degrade，而穩定存在於細胞核中，此 mutant DMPK mRNA 會造成 MBNL1 的活性下降與 CUGBP1 的蛋白量上升；CUGBP1 則是非常重要的 RNA 結合蛋白，會造成 RNA 上的 S302 無法磷酸化，而抑制許多 mRNA 轉譯蛋白質，進而導致肌肉細胞萎縮或其他細胞的不正常生長。

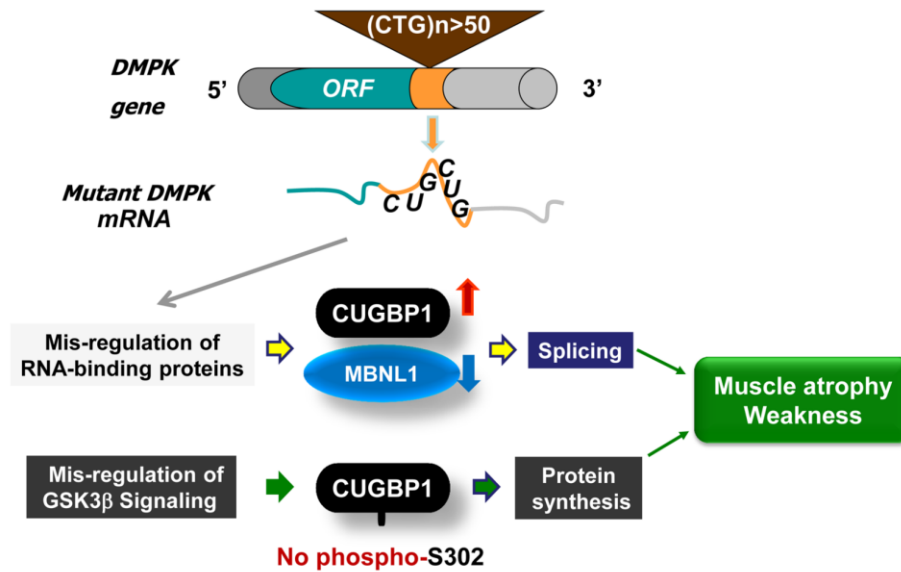


Figure 1. Model showing molecular pathways by which mutant *DMPK* mRNA might cause muscle atrophy and muscle weakness in DM1

From Timchenko L. Int J Biochem Cell Biol.

Dr. Timchenko 的實驗室發現 CUGBP1 的蛋白量上升是透過活化 glycogen synthase kinase 3β (GSK3β)-cyclin D3-cyclin D-dependent kinase 4 (CDK4) signaling pathway，因此我們假設藉由抑制 GSK3β 可以降低 CUGBP1 的蛋白質合成，進而矯正 DM1 細胞與小鼠模式的病理情形。我的研究主要就是了解抑制 GSK3β 在 DM1 病人細胞產生的影響與可能的治療機轉。在 Dr. Timchenko 的教導下，我在短短的一年內完成許多的研究結果，且在離開前論文已完成即將投稿，此部分的結果對於未來藥物的開發將非常的有幫助，期待可以因此造福更多病患。雖然無法應教授的要求再多留一年繼續研究，但也與教授約定未來有跨國繼續合作的管道。

3. 兒童神經肌肉疾病的臨床參訪與學術活動：

辛辛那提兒童醫院醫學中心一直都有非常豐富的臨床學術活動，在不影響研究進度的前提下，教授非常鼓勵我參加各種學術活動。在這大大小小的研討會中，令我最印象深刻的是每週二中午的 neuroscience meeting，這個

會議是由兒童神經科的研修醫師們輪流上台報告他們的研究，在這裡的神經科的修醫師除了臨床的訓練，也被要求要進行研究上的訓練，因此每位研修醫師會找一位指導教授進行相關的研究，這樣的研究不限任何形式，可以是臨床研究，也可以是基礎研究。研修醫師報告後會由科內的老師們提出相關意見與指教。曾有一位神經科研修醫師的研究是利用網路問卷來了解世界各國兒童神經科醫師的訓練情形，當報告醫師報告完這個有趣的研究後，台下有聽眾問到報告者在研究的過程中對哪個國家的神經科醫師訓練最為印象深刻，報告者並不知道聽眾中有來自台灣的我，但我從他的口中聽到他覺得台灣的兒童神經科醫師訓練很棒時，我突然覺得很與有榮焉。

此外，我也有機會參觀兒童的睡眠中心，這裡的員工都非常熱情友善，除了派專人帶我們參觀睡眠中心的硬體設施，更詳細解說睡眠中心的運作情形與病人型態及來源。



辛辛那提兒童醫院醫學中心的睡眠中心與睡眠檢查室

本人自 2011 年在臺大醫院組織了一個兒童神經肌肉疾病的醫療照護團隊，期望可以提供最先進、最完整的整合性醫療照護。神經肌肉疾病雖然是以肌肉漸進性萎縮無力、退化性肢體運動功能障礙為主要表現，然而其造成的影響卻包括全身器官系統疾病，造成患者、家屬身心極度負擔以及社會照護成本提高，因此照護這群病人，須制定個人化，以病人為中心的整合性照

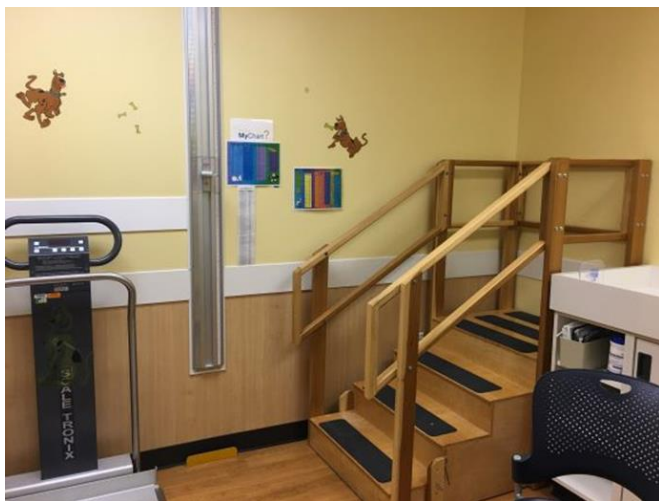
護。在來此進修前，我就耳聞這裡有一個很棒的神經肌肉疾病照護中心 (comprehensive neuromuscular center)，而我也順利連絡上中心的 director Dr. Brenda Wong，並參與了她的臨床照護觀摩。病人來這裡的聯合門診之前會先有個管師幫忙安排聯絡門診的時間與相關檢查時間。聯合門診當天，病人報到後會被安排在一個診療室中，由各個相關的醫療人員包括各科醫師、護理師、營養師、治療師等輪流進入診間對病人進行訪談與檢查，待醫療人員結束訪談後，會回到醫療人員的辦公區 (醫療人員辦公區在中間，診療室則圍繞在辦公區周圍一圈)與其他相關人員進行病人討論。



門診病童診療室



門診病童診療室(左側)與醫療人員辦公區(右側)中間的走道



神經科門診檢查室



神經科門診走道一隅

Dr. Wong 是病童醫療決策的最主要醫師，她有一個專屬的護理診療師 (NP, Nurse Practitioner) Courtney 會先進行病人問診與神經學檢查，再將病人狀況與理學檢查與實驗室檢查結果跟 Dr. Wong 報告，再由 Dr. Wong 去跟病人解釋與進行醫療決策，Dr. Wong 也會決定病童是否須看其他次專科醫師。這樣的運作模式一整天(上午+下午)的門診約可看 4-6 個病人，每個病人耗費的時間約 4 個小時。但這樣的整合門診花費是非常非常昂貴，因為美國是私人保險制，這些費用絕大多數都由保險公司支付，辛辛那提兒童醫院醫學中心有一個非常完整龐大的行政單位，專門去跟各個保險公司周旋，因此醫療費用的部分完全不需醫師費心，醫師只要發揮她的專業專心照顧病人即可，病人的聯絡與相關臨床與檢驗資料的整理與收集也都另有專人負責，這樣的人力配置著實讓我羨慕不已。Dr. Wong 本身也是亞洲人，她很熱情與友善，除了盡力回答我的各種問題，也跟我聊了很多美國與亞洲醫療的優缺點。雖然 Dr. Wong 因為個人生涯規劃，在 2018 年 5 月離開辛辛那提兒童醫院醫學中心，與她的 NP Courtney 前往位於 Worcester, Massachusetts 的 UMass Memorial Medical Center 擔任 Duchenne muscular dystrophy center 的 director，我也跟她約定好回台灣後我會持續在兒童神經肌肉疾病的領域努力，未來會持續保持聯絡，並在相關的國際會議中碰面。



與 Dr. Wong 及其 NP Courtney 合影留念

心得與建議事項

一年的時間轉眼即逝，辛辛那提雖然是個相對較為鄉下的地區，卻很幸運擁有全美最佳的兒童醫療中心，我也很幸運有機會來這裡進修。這裡沒有大都市的繁華與熱鬧，這樣的環境讓我更能專心致力於進修研究，這裡的人們也沒有都市人的冷漠。我初來乍到就受到許多人的熱情幫助，讓我可以快速的在生活與研究上都順利上軌道。這裡的氣候宜人、環境優美，物價水平相對也沒有紐約、舊金山等大都市高昂，這裡曾被票選為美國人退休後最適合居住的城市。曾有辛辛那提兒童醫院的醫生跟我說，如果你要當醫生就要來這家醫院，因為這裡的醫療水平素質高、待遇優渥，但相對物價水準較低、環境宜人。

這次的進修很幸運可以同時在臨床與基礎研究都有所涉略。在臨床參與部分，我必須很驕傲地說臺灣的醫療水準真的不輸這裡，硬體設備也是旗鼓相當，然而這裡的醫院員工每個人都有很合理的工作量與報酬，人員分工周全詳細，即使是這裡的醫師，也有只專精於臨床的醫師，或只專精於研究的教授。醫院的個案管理師、護理診療師、協助醫師的行政人員都非常的多且完整，醫師不須煩惱醫療專業以外的事情，可以專心致力於本科，可以有很多時間跟病童家屬溝通，也無需像我們在臺灣幾乎是燃燒生命，犧牲家庭生活在工作。這樣人員的配置，專業的分工，合理的工時，完全是我們所難以望其項背。相對的，這樣的高品質醫療費用也是非常的昂貴，以神經肌肉疾病整合門診為例，病童每次門診的看診加檢查，就是十多萬元臺幣到數十萬元臺幣的費用，但醫師完全不須煩惱申請給付的問題，醫院有專責的單位部門會跟保險公司周旋。臺灣的醫院在醫療人力吃緊、醫療費用相對便宜許多的環境下，可以提供與美國頂尖醫院品質相當的醫療照護，雖然是值得驕傲，但想起來也相對的悲哀，這樣辛苦的醫療環境未來若不思考如何改善，許多問題如醫療資源浪費、醫病關係緊張等將會逐漸浮現擴大。

在研究方面，辛辛那提兒童醫院是很鼓勵年輕醫師或臨床醫師研究，但這

樣的研究不一定要是基礎研究。因此如何進行研究是這裡年輕研修醫師的訓練之一，從住院醫師時代就開始訓練如何進行研究，將臨床與研究結合，我想這也是美國可以持續有許多研究新血加入，研究得以持續、創新與傳承的重要原因。此外，若臨床醫師想從事研究，不一定需要具有PhD的資格，也不一定要從事基礎研究，即使是MD從事臨床研究也可以跟NIH申請計畫與經費。一旦通過之後獲得的研究經費，往往是臺灣一個研究計畫的數十倍。我在美國的指導教授曾經問我在臺灣的研究計畫經費多少，她聽完後覺得非常不可思議，認為這樣的研究經費怎麼可能完成一個頂尖的研究計畫。此外，在美國的研究評鑑的制度上，是以多年期成果(3-5年)為主，而非每年評估，這樣才有辦法完成需耗時耗錢的重大研究發現與頂尖論文。相對之下，在臺灣的經費規模小，又需要每年有一定論文產出。因此研究工作者為了生存，衍伸出“小而美”為主要的研究主題，以中小型研究成果及中等論文的發表為主要目標，然而這樣的研究成果往往較不被國際所重視。因此，相較而言，臺灣的研究環境投資不足，又急於求成，這樣的結果將削減了臺灣研究的國際競爭力。

在辛辛那提兒童醫院，無論臨床與研究都很強調分工的重要性，因此這裡有很多的核心實驗室(core lab)，許多的頂尖技術你只要付費就會有人幫你完成。此外，因為每個人的研究專長主題不同，這裡的人相對的open-minded，這裡有許多的研究會議，只要你報告自己的研究主題與內容，各領域的專家會就自己的專業部分給予許多中肯的意見，幫助你的研究更完善，大家都不吝於分享與討論。這樣的分工合作機制，更能促成許多頂尖與重大研究的完成與發現。因此如何讓臺大醫院的研究資源進行整合、促進研究人員彼此信賴合作，將是未來我們可以提升國際研究競爭力的一條道路。

本次出國進修獲益良多，很感謝有這樣的機會到辛辛那提兒童醫院醫學中心進修。本次進修除了將相關技術與觀念帶回本院，並銜接本人在過去兒童神經肌肉疾病的相關研究與臨床醫療，也因此搭起了國際合作的橋梁。期望未來

我們醫療環境更進步，研究環境更寬廣，也期許自己可以成功銜接臨床以及研究之雙重使命與責任。