

出國報告（出國類別：進修）

## 皮膚系統中的黑色素細胞存活與再生

服務機關：國立臺灣大學醫學院附設醫院

姓名職稱：洪楨邦醫師

派赴國家：美國

出國期間：110年12月1日至112年11月30日

報告日期：113年3月1日

## 摘要

皮膚是由多種細胞組織而成的器官，與皮膚最相關的疾病系統不外乎皮膚角質細胞、毛囊、色素細胞、纖維母細胞、脂肪細胞等。臺灣雖然惡性黑色素細胞瘤的發生率比國外白人少很多，但仍是一個重要的皮膚可致死疾病。另外，東方人膚色的深淺問題，例如肝斑、白斑等也困擾著廣大的病人族群，色素表現更可以是體內疾病的一種先兆。雖然惡性黑色素細胞瘤相關的癌化研究已經不少，皮膚色素作為人外顯的最重要特徵，非癌化的黑色素細胞如何死亡，以及與其他細胞的互動，仍有許多問題未被仔細研究。

為了更深入研究皮膚系統的運轉，以黑色素細胞與其他皮膚組織細胞為對象，來研究基因表達及神經系統活化，對皮膚色素、毛囊色素、毛囊生長週期的影響，本進修計畫選擇到美國哈佛大學的幹細胞實驗室，系統性研究以病毒為載體的介入性基因表達，使用小鼠的色素與毛囊週期為研究模型，為未來皮膚疾病的細胞治療作準備。

# 目次

	頁碼
一、目的.....	1
初衷.....	1
二、過程.....	1
(1) 進修機構.....	1
(2) 實驗室環境.....	2
(3) 研究內容.....	3
(4) 校園之外.....	5
三、心得.....	6
(1) 生活.....	6
(2) 科學研究.....	6
(3) 醫藥生技產業.....	7
四、建議.....	8

## 一、目的

### 初衷

人類外顯的最重要特徵，應該就是色素與毛髮了，亞洲人對膚色極為重視，肝斑、白斑等也困擾著很多人。黑色素細胞的疾病中，惡性黑色素細胞瘤是重要的癌症，而且可以致命。此外，皮膚色素表現更可以是體內疾病的一種先兆，如同體內的一面鏡子。然而，除了外觀上可以看到的黑與白，黑色素細胞本身存活、死亡如何調控，黑色素細胞如何與毛囊互動，如何被遠端的組織所影響，都所知甚少。一方面，國內外對惡性黑色素細胞瘤的研究已頗多，從傳統的訊息路徑去研究很難有突破，另一方面，我認為臺灣的臨床研究已經十分地優秀，人材濟濟，我期待自己能帶一些新知，一些新的基礎研究題材回臺灣發揮，因此一開始就打定主意，不去醫院的實驗室，我想要接觸更多的基礎研究。為了更深入研究皮膚系統性的運轉，以及學習使用小鼠模型，來檢驗神經系統與皮膚色素、毛囊色素的改變，將色素問題放在皮膚的整體系統中來了解，而不只獨立看待黑色素細胞。因此，我選擇到美國哈佛大學的幹細胞實驗室作研究，並為未來皮膚疾病的細胞治療作準備。選擇到哈佛大學，除了做研學研究，也希望能帶回世界一流頂尖學府做事的方法。

## 二、過程

### (1) 進修機構

哈佛大學幹細胞再生生物學研究所 (Harvard Stem Cell and Regenerative Biology, HSCRB)，自 2007 年成立於哈佛 Cambridge 的校總區以來，其使命是透過連接基礎研究、醫學轉化和生命科學創業來改善人類健康。哈佛幹細胞再生生物學研究所的研究覆蓋了從分子、細胞、組織、器官到生物體的生物學，從受精開始到老化過程，既包括正常生理狀態也包括疾病狀態。使用多種動物模型，包括斑馬魚、小鼠和蝶螈，以及人類多能幹細胞和下一代人類器官仿生體，以研究人類發育和病理生理學中其他方式無法接觸的方面。此外，哈佛幹細胞再生生物學研究所還致力於開發新技術，以控制細胞在發育和再生過程中的命運。

教學也是哈佛幹細胞再生生物學研究所的核心使命，其獨特的本科生和研究生課程既是優先事項，也是該部門的驕傲所在。哈佛幹細胞再生生物學研究所的人類發育與再生生物學 (HDRB) 專業是大學中最著名的專業之一，重點強調實踐研究。哈佛幹細胞再生生物學研究所還領導了基於哈佛醫學院的生物醫學博士 (BBS) 項目中的發育與再生生物學 (DRB) 路徑，專門招募對幹細胞、再生和發育生物學感興趣的學生，其擁有創新的課程和科學，並積極參與社會活動。

哈佛幹細胞再生生物學研究所不僅是教育和研究的領導者，還致力於將科學發現轉化為治療患者。通過與哈佛大學其他傑出的生命科學和化學系緊密合作，使其在幹細胞研究和再生生物學領域處於領先地位。

整個哈佛幹細胞再生生物學的大樓，學生與博後人員中，一開始只有我一個臺灣人，但在我來的第二年時，終於有一位臺灣的同鄉林博士，加入了另一個以研究老化著名的實驗室當博後，終於有機會在這個 building 遇到同鄉聊聊天。



美麗的哈佛校總區

## (2) 實驗室環境

由於我的興趣在於皮膚系統性的運作，尤其是皮膚組織中各種細胞的協調運作(coordination)，因此，雖然是起初是以黑色素細胞為研究對象，指導教授許雅捷博士希望我能用一個各全面的視角，來研究上述的 coordination。因此，我參與的 project 並不僅限於黑色素細胞，更包含了老化、傷口癒合等皮膚系統性的問題，黑色素細胞的研究成為一種研究工具，這樣子的研究能讓我以更深遠的眼光，看待皮膚各種細胞間的協作，甚至是皮膚細胞與其他器官系統的協作。我會在此份報告簡單介紹進修學習的內容與心得。我來美國進修時即打定主意要作純 basic research，最終選擇許雅捷教授實驗室作研究。許教授由臺灣清大畢業後，於美國 Baylor college 取得博士學位，並在洛克菲勒大學作博士後研究，有著皮膚科學研究領域非凡的研究成果，最後在哈佛幹細胞再生生物學研究所成立自己的實驗室，其位置在哈佛 Cambridge 校總區，與在 Longwood 的哈佛醫學校區有一段距離。由於我在美國並沒有接觸病人或病人相關的檢體，因此，以下的研究介紹會偏向基礎生物學，而非臨床疾病導向的研究。

哈佛許教授的實驗室深耕組織與細胞的 coordination，已發表的內容多是關於神經、壓力、荷爾蒙如何影響皮膚，是我的研究興趣所在。之前發表於 2020 年 Nature 的 paper (Hyperactivation of sympathetic nerves drives depletion of melanocyte stem cells)，就是關於交感神經活化如何減少黑色素幹細胞的研究成果。「壓力」一直被推測與多種組織變化相關，在皮膚特別是與灰白髮有關，然而，外部壓力因素如何在體幹細胞層面發揮影響仍不清楚。這個 2020 年發表的研究亮點在於，通過皮下注射 RTX(resiniferatoxin)來激活小鼠皮膚中的感覺神經，從而在小鼠中產生疼痛而激活交感神經(sympathetic nerve)，促進去甲腎上腺素的釋放，這是一種強壓力模型。果然，RTX 注射可以在小鼠中快速和明顯地誘導毛髮變白。RTX 的這種效應是通過激活交感神經系統和促進去甲腎上腺素的釋放來造成的，並且透過黑色素幹細胞上的 Adrb2 受體，去刺激黑色素幹細胞分裂、分化，活化 Cdk2 等基因，最後導致其枯竭，此即壓力導致白髮的機制。



皮膚幹細胞實驗室  
團隊合照

### (3) 研究內容

一個組織要如何能去影響另一個組織，主要有三種方式: (1)內分泌系統，(2)免疫系統，(3)神經系統。藉由這三個系統，一個組織才能去遠端影響其他細胞，因此，如果有一個現象是與遠端組織有關，那就是要想這三個系統是否有牽涉於其中。當然，除了這三者外，還有一些其他的因子，例如血液或組織液的 pH 值、氧分壓、長距離機械力等執要考慮。

前述哈佛許教授實驗室關於 RTX 的成果是在我來進修前已經發表，因此，我進到實驗室後，是以此為研究的 model，來測試一些與神經或黑色素細胞可能相關的因基，看 knock out or knock in 這些基因的小鼠，是否會改變 RTX 誘導的白髮程度，如果 knock out 某個基因是減少白髮的數量(rescue phenotype)，那此基因可能參與在黑色素細胞(melanocyte)枯竭的過程，與黑色素細胞的存活、死亡，

或是與神經的活化有關。每批實驗都需要一些時間執行與觀察，我測試了幾個基因改造鼠，但尚未找到有明顯改變髮色的 phenotype。

小鼠容易觀察的 phenotype，除了掉髮之外，還有就是 hair cycle，由於小鼠的 hair follicle morphogenesis 與第一個 hair cycle 的毛囊生長期(anagen)是一致的，因此容易觀察第一個生長期是否有提早或延後。特別的是，我當時在 lab 所測試的一個代謝基因，其 knock out 的小鼠對第一個生長期的影響不明顯，但等到第二個毛囊生長期則有很明顯的提早，雖然小鼠的第二個生長期的並不同步，意即有些部分會早一點長毛，有些部分會晚一點長毛，因此會有一些觀察上的困擾，但由於生長期從 90 天提早到 70 天左右，改變非常地明顯，因此可以判斷是一種 phenotype。這也讓我學到，有些實驗急不得，有時等待能帶來美好的成果，代謝基因的表現型，可能在小鼠上要累積一段時間才會展現出來。另外一個心得是，即使觀察的現象無法百分之百乾淨，但只要差距夠大，仍然非常令人信服。

除了上述的小鼠實驗模型，我也學習了我在臺灣沒使用過的的研究工具 - AAV(adeno-associated virus)，最一開始的測試，就是用於上述的毛囊 hair cycle，以及色素幹細胞。由於 AAV 的製備與使用，比基因改造鼠方便很多，也比較省錢，將 AAV 為基礎工具帶回臺灣使用的方便性很大，AAV 在臺灣用在 in vivo 的研究還不算很多，未來應該很有潛力發展成自己在臺灣這邊的研究特色。AAV 有非常多種的 serotype，各有不同的 tissue tropism，我在哈佛實驗室主要用的是 AAV serotype 8，它能很有效地感染纖維細胞與脂肪細胞，以及部分的神經細胞，其他 AAV 對不同 cell population 的感染率不同，我們用 AAV-reporter 感染的小鼠組織，跑流式細胞儀上的分析就很明顯有不一樣的 cell tropism，不同的 cell tropism 有不同的應用，端看我們想 target 的細胞是什麼。另外，雖然我所使用的 AAV 無法直接 target 黑色素細胞，但如果表達的基因是釋放因子，則仍有機會去影響黑色素細胞。

綜合而言，AAV、lentivirus 和 transposon 是我使用過的三種見常載體，作為基因表達的工具。作為載體，其各有優缺點。AAV 載體安全性高，免疫原性低，富有作為未來臨床基因治療的潛力，在皮膚主要感染纖維細胞，但載體大小約為 4.7kb，限制了 transgene 的大小。lentivirus 載體可以 integrate 到宿主 genome，在皮膚可以染角質細胞，並實現長期表達，載體容量約為 8kb，但存在潛在的基因重組風險。Transposon 系統，如 Sleeping Beauty 或 PiggyBac，可攜帶更大的基因，可超過 10kb，並且能穩定整合到宿主基因組中，但整合位點的隨機性可能影響基因表達和安全性。每種載體系統在選擇時需根據目的、安全性和效率等因素綜合考慮。

傳統的 AAV 為 single strand AAV(ssAAV)，需要宿主細胞的機制將單鏈 DNA 轉化為雙鏈 DNA，但也有較新的 self-complement AAV(scAAV)的自補全 AAV 設計，通過立即形成雙鏈 DNA 結構，來繞過單鏈轉化成雙鏈這一步驟，顯著提高了基因表達啟動的速度，在我的小鼠皮膚注射的測試中，scAAV 的感染的效率也比 ssAAV 來得高。然而，由於 scAAV 雙鏈基因組的載體容量限制，scAAV 的容

量約為 ssAAV 的一半(2.3kb)，限制了可以裝載的基因大小。儘管如此，較高的效率和更快的表達啟動，仍使 scAAV 成為基因治療中重要的工具。通常釋出因子與 cytokine 的 cDNA 長度較短，往往可以裝載得下。當然，選擇 ssAAV 還是 scAAV 取決於多種因素，包括治療基因的性質、目標組織、期望的表達速度及持續時間。

另外，有哈佛與 MIT 的研究團隊，以及加州的 UCSD 的研究團隊，都在研究用基因重組的方法，來改良 AAV，產生新的 AAV type，以感染不同的組織細胞，以及提升感染的效率，未來有可能創造出感染黑色素細胞的 AAV。因此，AAV 是一個仍在演化的工具，十分具有潛力。

#### (4) 校園之外

雖然研究的壓力不少，但我仍想參加一些波士頓(Boston)地區的臺灣人社群，因此，除了參加 Harvard 這邊 institutes 的活動，我也參加了 BTBA (Boston Taiwanese Biotechnology Association)、BTPA (Boston Taiwanese Physician Association)，認識了不少朋友，大概有一半臺大的校友，包括大學的同班同學，都已在這邊有很好的發展。由於哈佛學生會的副會長是我的好友，因此也參加了一些學生會舉辦的活動。這等於我同時有 expose to 學術圈(醫學校區與非醫學校區)以及生技業界，這真正有開了眼界。

哈佛校總區所在地是 Cambridge (劍橋市)，與波士頓市區隔一條 Charles river，都屬於大波士頓地區，波士頓是個資源與活力充沛的大城市，同時適合學術研究或業界的人在這邊工作。每當我自覺已經聽過很多大大小小、各式各樣業務的公司，但總會在下一次聽到更多不同業務的公司，以及認識新來波士頓的生技人。大波士頓地區約有 480 萬人口，以都會圈人口來算，在波士頓前面還有紐約、洛杉磯、芝加哥、DC、灣區、達拉斯、休士頓，但以生技業的密集度與品質而言，是全美第一。在波士頓，不管是學界的學生、博後，或是業界的從業人員，很多都是從外州來的，甚是從其他國家過來的，可說海納百川。美國很大，東西岸還是有些差別，波士頓有很多歐洲來的學生與博後，而加州則是亞洲來的居多。



新舊融合的波士頓



### 三、心得

就如同前述，由於我參加的實驗室是在校總區，我鮮少有機會前往 Longwood 醫學校區，因此，心得方面就沒有在醫院的這一塊。

#### (1) 生活

由於是 2021 年 12 月抵達美國波士頓，當時不僅已進入冬天，而且還是 COVID-19 Omicron 之濫觴，基本的食衣住行，以及銀行開戶、開通手機，仍在一週左右完成。但哈佛大學對 onboarding(入職)有頗繁複的要求，加上 COVID-19 的威脅仍沒遠離，因此第一週在學校那都在走流程，學校的行政也多半是遠端工作，meeting 也都改為線上，因此，辦理各項上工手續都需要預約，onboarding 的訓練也多半是 online，直到拿到 ID，我才能進實驗室開始研究工作。當時，學校的戶外活動都是暫停的。

過了半年之後，哈佛大學目前對 COVID-19 的管制措施已逐漸鬆綁，甚至口罩也沒有強制配戴，每週的病毒檢測則更晚才取消，當時我就相信臺灣的疫情一樣也會走到流感化這一步。

由於波士頓地區生活機能十分便利，生活很快就上軌道，透過一些活動，也在這也認識了許多臺灣同鄉以及臺大的校友，大家都很溫暖。皮膚科的學弟何柏翰醫師也在波士頓這做 consultant 的工作，很開心有認識的人一起在波士頓這邊努力。獨自一人來到高強度的實驗室進行研究，壓力著實不小，能多認識學校當地的美國學生與臺灣來的朋友，會使生活豐富很多。此外，波士頓的生活花費絕對是美國的前幾名，所幸有院方的經費補助，使得研究以外的日常生活比較容易些。

#### (2) 科學研究

感哈佛的研究環境與風氣，是我除了學習技術與知識外最大的收穫，但也是最難以用文字描述的，甚至有些寫出來還容易被誤解。在此，我試著用簡單的方式表達我所感受到的哈佛。首先，哈佛是非常有資源的學校，美國很大，有各種不同層級的大學，甚至有些是純教學的學校，不做學術研究。哈佛、史丹佛這些 tier 1 的學校，資源非常多，雖說 95% 以上的儀器設備，臺灣也都有，但我在哈佛看到的是，他們很願意去更新足量的設備，讓大家好用、好預約，使用前的教育訓練也很足，有新的設備也會很積極採購。新的 PI 也會有不低的 startup 資金去添購設備，因此有些 lab 有自己的 confocal microscope 等昂貴的設備，這讓他們在很多實驗上可以快速進行。

哈佛，或者說美國這研究的速度可以很快，還有一個原因是整個環境的 support 非常好，我印象最深刻的例子是，每當我們對某個基因感興趣，除非是很罕見的特殊品系，否則下訂這個基因的改造鼠，最快兩週後就可以送來做實驗。

但是在臺灣，花這筆錢就要先考慮再三，然後進口小鼠又是許多繁雜的行政程序，等到小鼠運進臺灣，已幾個月過去了。

研究的經費，也是臺灣很難企及的，我就知道我們樓上有實驗室，一年光養實驗動物及購買特殊品系的小鼠，就花掉 100 萬鎊元。由於有足夠的資源，就可以嘗試新的、但比較昂貴的一些實驗。另外，對於一般的 kit，臺灣在許可的範圍內，可能會節省用量，或者重複使用，在哈佛不會捨不得花這筆費用，許多常用的溶液，例如 PBS、LB 都有專人負責幫整個 institute 配置，這樣可能會有一些好處，例如每次測試的值可能會更穩定。實驗室本身的設施也提供很完善的服務，整棟大樓每天都會有專人清潔地板，弄得窗明几淨，實驗室的 bench 與個人辦公的座位也都比臺灣大，我們大樓內還有咖啡機提供免費的咖啡，我常常都是一天兩杯。確實，在哈佛做實驗比較舒服。

波士頓地區最好的學校就是 MIT 與哈佛，而這兩個 institute 的合作是大過於競爭的，很多學生的 program 都有兩個學校參與，校際間的選課也很多，這等於是強強聯手變更強，尤其 MIT 是在工科、理科特別強，哈佛與 MIT 有互補。臺灣不大，其實學校間應該個發展特色，然後合作，少作重複的事，這樣子科學研究才會有效率。

### (3) 醫藥生技產業

波士頓有特多的大藥廠，你叫得出名字的藥廠，幾乎都有一個或一個以上的據點在這邊。美國與臺灣最大的差別，不見得是學校實驗室設備，我覺得藥廠的差距可能更大，有了大藥廠，才會生出許多職位，例如藥物上市後的安全性分析。在這，小的生技公司也比較有機會被收購。許多新藥、新技術，往往不是大藥廠開發來的，而是學校的實驗室或小生技公司的發明。當整個醫藥的產業鍊完整時，不論是小公司或大藥廠，就會像活水一樣流動，此時，醫藥研究與生技人的價值就更能彰顯。

這種產學的深刻融合，我所在的哈佛幹細胞再生生物學研究所就可以窺見，我剛進實驗室一陣子後，樓上 Melton 實驗室就有了一個大新聞，主持人 Douglas Melton 博士離開哈佛前往 Vertex 公司任職，並且延續他用 stem cell 的技術，製作胰島素分泌細胞，用以治療第一型糖尿病，並且已經將產品推向臨床試驗。這一步，應該是眾多從事基礎生醫研究者的夢想!

我常在思考的是，到底是人成就產業，還是產業成就人比較多，比較通俗的答當然是互相成就。但想想最近股價狂飆的輝達(NVIDIA)創辦人是臺裔的黃仁勳，另一晶片大廠超微(AMD)的董事長暨執行長也是臺裔的蘇姿丰，讓我覺得臺灣的人材資質絕對沒問題，就醫藥生技業而言，如何創造一個魚水互幫的產學環境，可能是臺灣下一步要提升的方向。

## 四、建議

科學研究不似工廠，在哈佛這邊還是頗尊重各個實驗室，每個實驗室的領導風格並不相同，有些實驗室 PI 的風格比較自由，實驗會有比較多自主嘗試的部分，也有些實驗室都會有比較謹慎的研究路徑，雖然沒那麼自由，但也減少走彎路的機會。這些不同類型的實驗室都可以十分成功，因此我覺得學風自由真的有其意義，研究成功的路徑不只一種，這點我確信無疑。

若要說哈佛這邊的研究，與臺灣有什麼不同，我能提的一個重點差異是，哈佛這邊會花很多時間在建立一個新的、獨創的 model，去回答以前的人所不能好好回答的研究問題。當然，一個新的 model 不是那麼好建立，甚至在建立的過程會發現與原本設想的有很大的出入，但這就是 tier 1 學校勇敢的地方。要特別說明的是，由於這邊核心實驗室(core facility)提供的研究支持很強，所以各個實驗室可以大膽在前端建實驗 model，只要實驗 model 建立得好，後面 pathway 的分析驗證，都有很強的 support，即使 core facility 沒有立即的設備可以使用，與其他實驗室或 MIT 合作，也很容易找到解決方法。在那邊，我很少看到哈佛、MIT 的實驗室以舊的實驗 model 為核心，也很少看到用滿滿的 Western blot 來評估一些已知的 pathway。

此外，對於一個大學，名聲非常地重要，哈佛之所以會這麼強，有很大的原因是，他匯聚了全美，乃至全世界的頂尖人材在這個地方，光實驗室的老闆強，不一定能做出好的研究，唯有在老闆與學生、博後，都是頂尖人材的情況，火花才會最盛。臺灣也是一樣，只要有好的名聲就會帶來好的人材。只要有好的名聲，即使哈佛的建築物都沒了，也很快能重生出一個哈佛來!

綜合上述，對於臺灣的生醫發展，以及醫院作為研究單位的一面，我的建議是，第一、尊重學術自由，第二、花時間建立研究的 model 並傳承，第三、建立好的核心實驗室，第四、建立好的合作風氣，不論是院際或是校際，第五、重視名聲。

最後，我個人也想鼓勵醫院的人員邁開出國進修的這一步。由於我這兩年是完全沒有接觸臨床，一直有點擔心回臺灣會不會有臨床銜接的問題，但我回臺灣後發現，並沒有太大的問題，除了一些臨床比較細的知識需要回顧，看診、開刀的記憶，很快就回來了，甚至現在看臨床疾病，會帶著不同的視角，對一些疾病表徵的細節也更敏感了，這或許是鑽研基礎研究帶來的敏感度，畢竟，基礎研究的主題，都是從很小的地方，仔仔細琢磨出來的。希望以上的分享，不僅僅是我個人的回顧，也能促使更多的人踏出國門進修去!