

以蟲為師



臺大醫學院分子醫學研究所
潘俊良副教授

1963年6月，任職於英國劍橋分子生物學實驗室(Laboratory of Molecular Biology, LMB)，三十六歲的Sydney Brenner，寫了一封信給時任LMB所長，結構生物學先驅，也是1962年諾貝爾化學獎得主的Max Perutz。在信中，Sydney Brenner提到：「我想分子生物學裡頭經典的問題基本上都已經解決了，再不然在接下來的十年內也將很快被解決...長久以來，我覺得分子生物學的未來應當延伸到其他領域，尤其是發育和神經系統...我們迫切需要把材料生物給”微生物化”...我想要馴服某種小小的多細胞生物來研究發育...」。

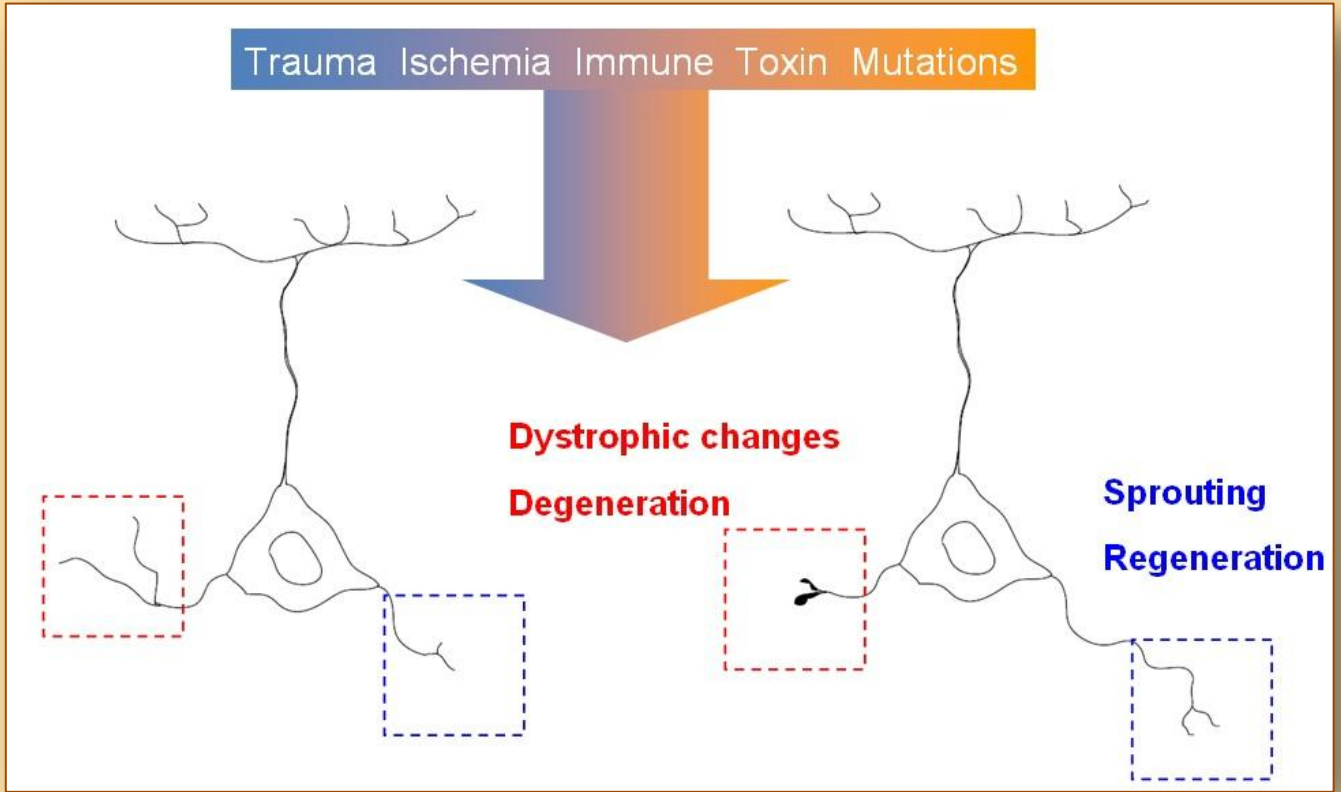
Sydney Brenner是誰？他解開了tRNA和胺基酸的攜帶配對關係，預測了在DNA和蛋白質之間，有所謂messenger RNA的存在；甚至，利用噬菌體的遺傳學實驗加上理論推導，得出了遺傳密碼的基本單位是三個核苷酸的結論。這些工作都在他三十四歲之前就做完了，以現在的眼光來看，他早該拿個諾貝爾獎，舒舒服服地慢活過日子。

Sydney Brenner想要馴服的小小多細胞生物，就是後來廣為人知的秀麗桿狀線蟲(*Caenorhabditis elegans*)。五十年來，這個僅有959個體細胞的小小多細胞生物，帶給人類知識難以想像的飛躍和突破，舉凡細胞凋亡、器官分化的機制，微型RNA(microRNA)的發現，RNA干擾(RNAi)的作用方式和廣泛運用，以至於細胞極化的基本分子、長壽基因的發現，都一再突破我們對生物學既有的想像，把生物學的前沿不斷向未知的領域延展。事實上，線蟲是第一個基因序列被完整解碼的生物，是第一個能夠在活體內表現綠色螢光蛋白的多細胞生物，也是唯一一個所有細胞的發育譜系(cell lineage)和神經系統的突觸連結都被清楚解析的生物。自2002年以來，已有**Sydney Brenner**和他所指導的四位博士後研究員：**John Sulston**、**Robert Horvitz**、**Andrew Fire**、**Martin Chalfie**，和再傳弟子**Craig Mello**先後獲得諾貝爾獎。

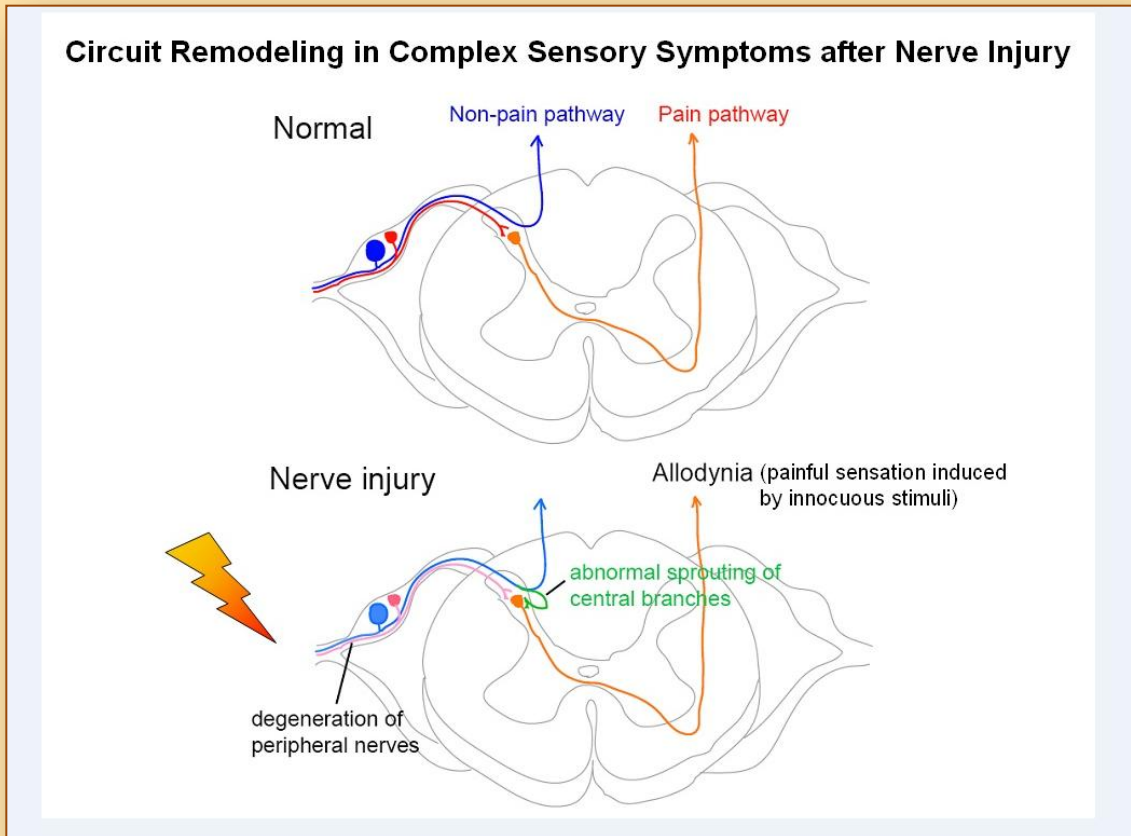
我於2003年負笈美國加州大學柏克萊分校，在**Gian Garriga**教授(曾是**Robert Horvitz**的博士後研究員)的引領下，從此一頭栽進線蟲的世界，成為所謂的worm breeder(養蟲人，*C. elegans*學界對彼此的暱稱)。台灣線蟲研究的第一人和奠基者，首推台大生科院的**吳益群**副院長，她是和**Martin Chalfie**和**Robert Horvitz**兩位諾貝爾獎得主的嫡傳弟子，在她的努力、遠見和無私奉獻之下，台灣的線蟲實驗室數量在近年來有令人驚喜的成長，目前共有台大校本部(**吳益群**、**廖秀娟**)、台大醫學院(**詹世鵬**、**吳瑞菁**、**歐展言**、**蔡欣祐**、**潘俊良**)、成功大學(**陳昌熙**、**莊漢聲**)、陽明大學(**許翹麟**、**金翠庭**)、中研院(**李英惠**、**王忠信**、**薛雁冰**、**蔡怡陞**)、長庚大學(**羅時成**)、清華大學(**王歐力**、**汪宏達**)、交通大學(**莊碧簪**)、中正大學(**蕭光明**)等以線蟲為主要模式或模式之一而進行研究的實驗室，所培養的學生也慢慢開枝散葉，在國內外的產學界服務。

以下僅以簡短篇幅概略介紹我們實驗室過去五年來以線蟲為模式，對神經迴路的結構重塑(structural remodeling of the neural circuit)所做的探討。

神經迴路必須保持結構的穩定，確保訊息在每次傳遞的過程中，能以具有高度再現性和可預測性的方式，在不同的神經細胞之間傳遞。當外來因素(如外傷、毒素)或基因突變導致神經迴路的結構受到損傷後，神經系統通常有兩種反應：第一，將功能已經喪失而不可挽救的部分破壞掉。第二，試著生長出新的神經突起或產生新的突觸連結，去取代消失或受損的迴路連結。這兩種反應會對神經迴路的連結性產生程度不一的改變，統稱為神經迴路的結構重塑(圖一)。這種結構的重塑常常造成神經迴路的錯誤連結，也因此被認為是神經損傷後造成一系列異常感覺症狀的原因之一，包括創傷後自發性的神經痛和無痛刺激卻導致激烈疼痛等難解的臨床症狀(圖二)。過去在線蟲、果蠅和哺乳類神經細胞的研究發現，MAPK路徑上的一個蛋白激酶DLK(dual leucine-zipper kinase)，具有雙重特質：過多的DLK會導致神經在受損後產生退化和萎縮的現象，但另一方面，DLK又是神經再生的必要因子。這兩個看似互相矛盾的現象，其實發生在神經細胞的不同位置，於是DLK在受到破壞的神經突起促進受損神經的加速分解，在殘留的神經細胞體或完好的神經突起中卻促進神經的再生，也因此DLK是神經迴路結構重塑的一個關鍵因子。雖然DLK具有如此重要的角色，但神經如何把損傷轉換成DLK的活化，一直沒有明確的答案。

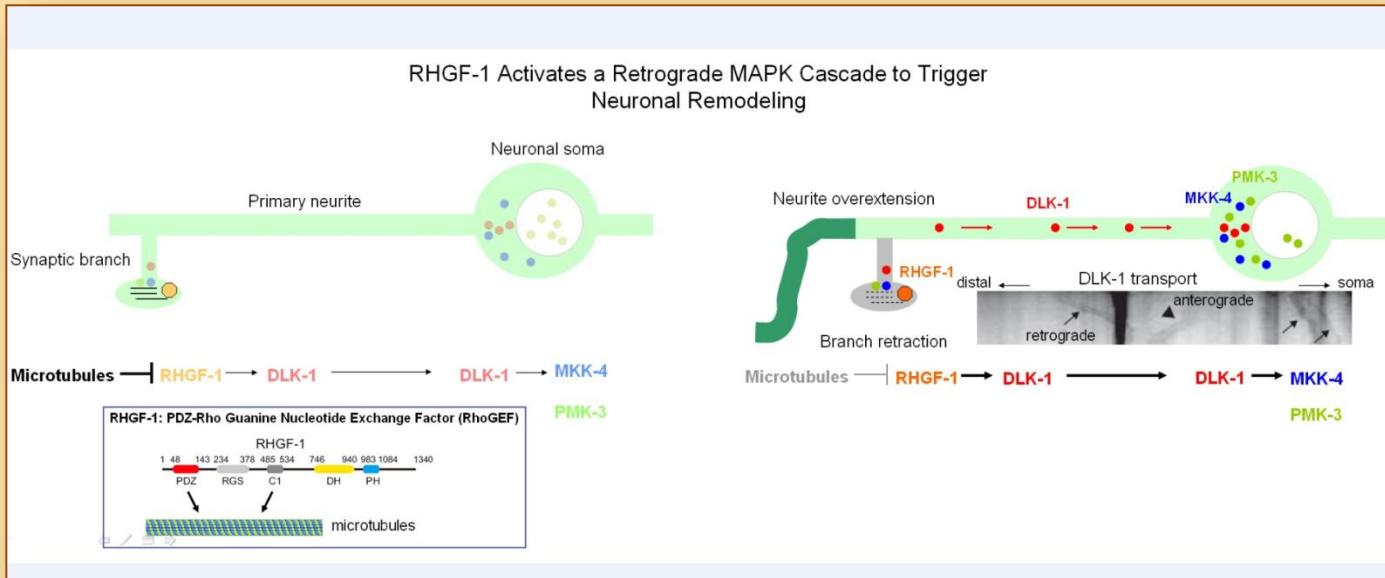


神經迴路的結構重塑(圖一)



創傷後自發性的神經痛和無痛刺激卻導致激烈疼痛等難解的臨床症狀(圖二)

自2010年起，我們實驗室的博士生陳俊豪同學，以線蟲的tubulin突變株為材料，開始探討這個問題。tubulin為組成微管(microtubules)的單元，對於神經的結構很重要。俊豪發現，tubulin的突變線蟲株，其觸覺神經的側分枝可以正常產生，卻會慢慢萎縮、退化；伴隨此側分枝的退化，神經的主軸卻產生異常的過度生長，也就是微管破壞後，觸覺神經細胞開始有了結構重塑的現象。透過許多遺傳分析和RNAi實驗，俊豪發現，在線蟲的神經細胞中有一個Rho GTPase exchange factor (RhoGEF) RHGF-1，RHGF-1平時會被微管所吸附並抑制；在微管被外力或基因突變破壞後，RHGF-1被釋放出來，並透過Rho/Rac small GTPase的訊息傳遞，活化了DLK。透過在活體的線蟲神經軸上進行即時動態螢光攝影(in vivo time-lapse imaging)，俊豪觀察到被活化的DLK會透過軸突輸送的方式，從神經的末梢被逆向送回神經細胞體，進而啟動一系列和結構重組有關的基因表現(圖三)。



被活化的DLK會透過軸突輸送的方式，從神經的末梢被逆向送回神經細胞體，進而啟動一系列和結構重組有關的基因表現(圖三)

這個研究告訴我們什麼? 第一，神經細胞利用RHGF-1作為細胞骨架的損傷探測器：當細胞骨架(或微管)的損傷越嚴重，被釋放而活化的RHGF-1也越多，進而帶動DLK的活化。因此RHGF-1可以根據神經損傷的程度來調節結構重塑訊號的強弱，讓神經結構的重塑符合神經損傷的嚴重度。第二，神經末梢的DLK活化後，被送回神經細胞本體去調控基因的表現，暗示神經結構的重塑具有高度的Compartmentalization。第三，RHGF-1不僅存在於線蟲，也存在於哺乳類的神經細胞中，而且其下游的訊息傳遞路徑高度相似，因此利用線蟲這種在遺傳實驗上具有優勢的模式生物，可以幫助我們了解複雜神經系統迴路重塑的基本機制。

結語

即使如細菌或病毒般「原始」「簡單」的生物，一直到現在，還是有許多科學家所不了解的奧秘，最好的例子就是現在橫掃全球的CRISPR旋風，其實就是細菌裡頭的防衛機轉。線蟲這959個細胞，若認真說來，即使窮盡人的一生，也未必能了解這壽命僅有十餘天的小蟲背後所蘊含的科學真理。以蟲為師，是吾人在面對廣闊無垠的自然時，所該有的謙遜和自知。

參考文獻

Chen CH, Lee A, Liao CP, Liu YW, Pan CL. (2014) RHGF-1/PDZ-RhoGEF and Retrograde DLK-1 Signaling Drive Neuronal Remodeling on Microtubule Disassembly. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 111: 16568-16573.