

諾貝爾獎特別報導

2002年諾貝爾生醫獎特別報導

翻開閻羅王的生死簿

2002年諾貝爾生醫獎頒給了來自英國的布瑞納、蘇斯頓及美國的霍維茲，他們運用新建立的模式動物 — 線蟲，使人類對於器官的發育以及計畫性細胞死亡有了更完整的了解。

黃才芳　吳益群

人體需要靠細胞的分裂來產生新的細胞，但同時也需要細胞死亡的進行，這樣我們體內的細胞數才能維持恆定。一個成年人每天會有近十億個細胞複製產生，因此同樣也需要相同數目的細胞死亡，這個細胞自殺的過程，稱之為「計畫性細胞死亡（programmed cell death）」。

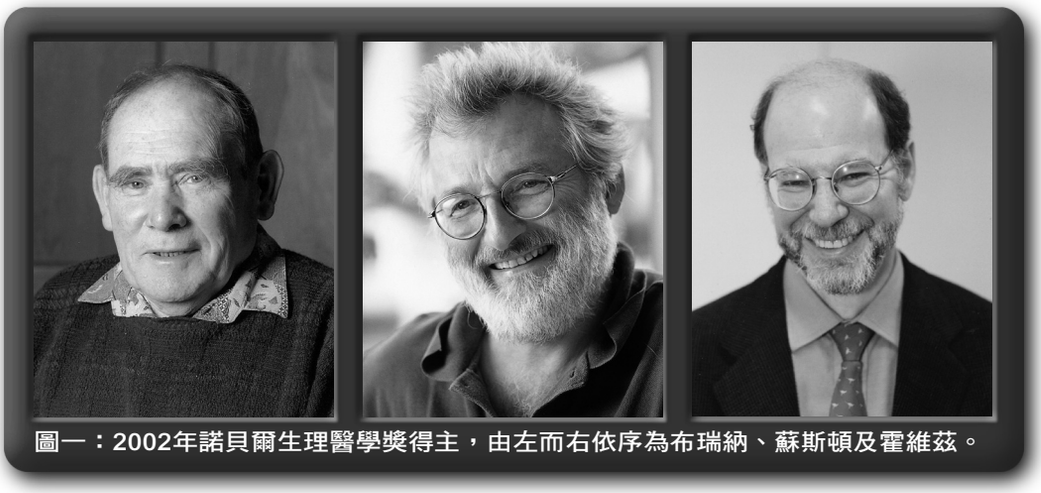
發育生物學家發現，計畫性細胞死亡對於個體的發育而言相當重要，例如當蝌蚪發育為青蛙的過程中，尾巴的細胞進行細胞死亡而消失。在人類胚胎中，位在手指和腳趾之間薄膜的細胞也必須進行計畫性細胞死亡，才能形成完整的手指和腳趾；而大腦的發育也需要大量的神經元細胞進行死亡，人類的中樞神經系統方能完成發育。

今年的諾貝爾生理醫學獎得主布瑞納（Sydney Brenner）、蘇斯頓（John E. Sulston）及霍維茲（H. Robert Holvitz）（圖一）的重要貢獻主要有二：第一是建立了線蟲的模式動物系統，運用線蟲本身的優越及完善的遺傳分析技術，發現了許多影響線蟲發育的基因，其中也包括作用於計畫性細胞死亡的重要基因，讓研究者能一窺計畫性細胞死亡的機制。第二則是將牽涉於細胞死亡的重要基因，在人類基因體中找到同源基因，而使得細胞死亡機制能在人類中進一步研究。這些重要的成就不單單讓大家了解了線蟲本身，更因為線蟲及人類基因體之間的保守性，讓這些研究可以應用在人類的疾病及醫學上，而對人類有卓越的貢獻。

建立線蟲為模式生物

布瑞納和克立克、華生是同一個年代的巨擘，他和克立克一同發表了mRNA會以密碼子的方式，作為胜肽合成模板的重大發現。長久以來，布瑞納都以「十分了不起但沒有得諾貝爾獎的人」而聞名，但是今年他可得摘掉這個著名的稱號了。

在1960年初期，當大多數的科學家還在為分子生物學的許多重大發現（如DNA、mRNA與蛋白質等大分子的合成過程）雀躍時，布瑞納便覺得大部分的這些問題已找到解答，因此生物學家應開拓一個更神秘、更令人興奮的領域，那就是「發育」。到底這些DNA分子，或名之為基因的



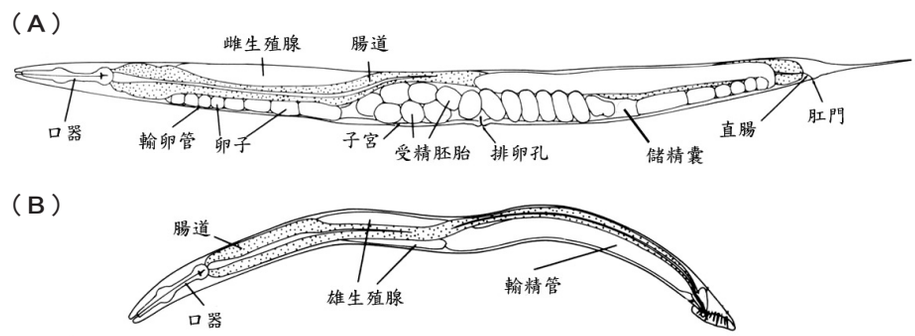
圖一：2002年諾貝爾生理醫學獎得主，由左而右依序為布瑞納、蘇斯頓及霍維茲。

物質，是以什麼樣的一個機制使個體形成？是經由怎麼樣的控制使細胞分化及器官發育可以準確地進行？布瑞納很了解，分子生物學的研究之所以成功的原因，是因為生物學家從細菌、噬菌體這種簡單不過的生物開始研究，從中找到了在高等生物中亦會發生的重要事項，諸如遺傳物質的複製及表現。因此同樣的，想要了解「發育」這樣精密且龐大的議題，用人類這樣複雜的系統切入是行不通的，我們需要經由一個簡單但具細胞分化能力的多細胞生物著手。

在1963年布瑞納寫給劍橋醫學研究所的實驗計畫書中便說道：「我們應該如分子生物學般，用以簡馭繁的方式來解決個體發育的問題，也就是儘可能找到最簡單且具分化能力的多細胞生物，並將科學家們已建立的良好分析工具套用在其研究上。」於是，他選擇了比果蠅簡單但比細菌複雜的線蟲（*Caenorhabditis elegans*）。

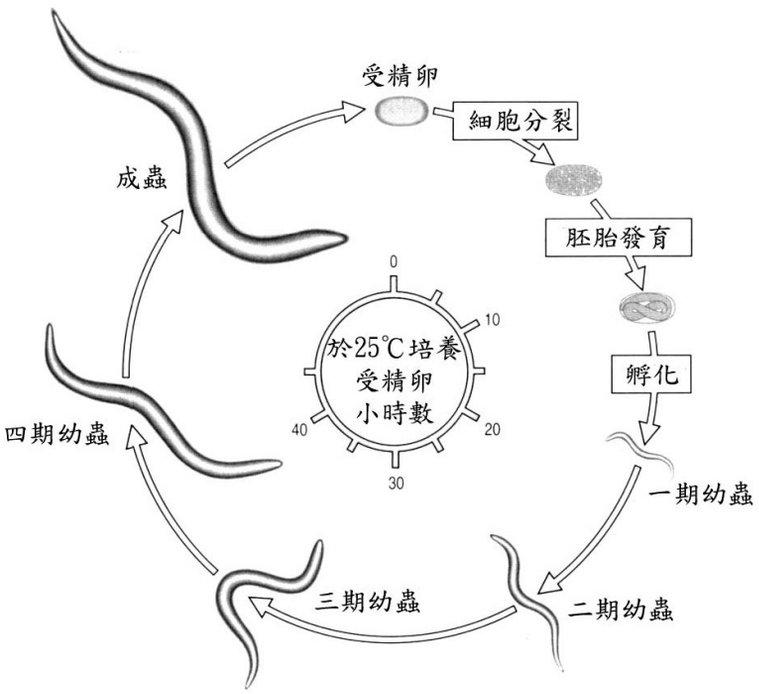
線蟲生活在土壤間水層，成蟲體長只有0.1公分，以細菌為食，在實驗室中非常容易培養。此外線蟲全身透明，因此研究者可以在顯微鏡下不需經過染色，將線蟲體內的器官諸如腸道、生殖腺等一覽無遺；若使用高倍相位差顯微鏡，更可以達到單一細胞的解析度，因此線蟲是研究細胞分裂或細胞死亡等的利器。由於線蟲僅具有1000多個體細胞，所以所有的細胞都可以徹底觀察研究，相較於人體數十兆的體細胞，要簡單的多了！線蟲具有雌雄同體及雄性兩種性別；雌雄同體可自行產生精子及卵子，因此可以不經交配就建立和親代相同基因體的後代，每隻雌雄同體可產生200～300個子代；而雄性出現機率比較低，每1000隻線蟲中，大概只會有一隻雄性出現，這是由於性染色體發生不分離所致。雄性的存在，使得遺傳物質得以經由其與雌雄同體的交配而產生交流（圖二）。

此外，線蟲的生命週期相當短，從一個已受精的胚胎，發育到具有生殖能力的成蟲，在25℃環境中培養，只需要三天半的時間。這對於研究者而言，不啻為



圖二：線蟲（*C.elegans*）構造圖；（A）雌雄同體；（B）雄性。（作者　提供）

一大利多，大幅地減少了等待的時間（圖三）。結合了可產生大量的子代、可交配建立多重突變種及快速的生活史這些優勢，使線蟲可應用理論及技術皆臻完善的遺傳學，進行遺傳分析，了解基因和基因之間的關係。



圖三：線蟲生活史；培養於25℃，僅需三天半即可從胚胎發育為可產生下一代的成蟲。（作者 提供）

除了獨具慧眼建立線蟲為模式動物外，布瑞納還進一步發現，可藉由化學藥劑EMS（ethyl methanesulphonate）造成線蟲基因體的單點突變，若此單點突變損毀了某個基因的功能，則突變種可能產生某種表型，此時研究者便可以探討表型與該基因突變之間的關係，進而了解該基因在正常發育過程中所扮演的角色。線蟲夠簡單也夠複雜，因此可以讓研究者清楚的追蹤其表型，進行更深入的分析。1974年，他在*Genetics*發表第一篇以線蟲為模式動物研究的文章。

在布瑞納發展線蟲的當時，相當多人都以「異想天開」來看待這種小蟲，認為線蟲和建立已久的果蠅系統相差太多，不可能對遺傳學甚或細胞發育學有什麼了不起的貢獻。但這一切並沒有讓布瑞納灰心，他利用線蟲這個模式動物將遺傳分析和細胞分裂、細胞分化及器官發育串連，他的遠見與勇往直前的精神是獲得今年諾貝爾生物醫學獎的基石。

建構細胞淵源

蘇斯頓於1969年加入布瑞納在劍橋的研究團隊，如同布瑞納對研究所所寫的計畫書中，要將線蟲建立為一個可用的模式生物，科學家必須對牠的所有細胞有基本的了解。因此蘇斯頓便利用線蟲全身透明的特性，在高倍率的相位差顯微鏡下觀察並追蹤每一個細胞，經過十餘年的努力，蘇斯頓終於完美地達成目標，並由觀察中得到重大發現。

細胞淵源（cell lineage）這個字可以表示細胞分裂與細胞親源的關係。舉例來說，A細胞分裂為B細胞及C細胞，而B細胞之後再分裂為D細胞及E細胞，這整個由A到E的過程，就是細胞分裂系譜，經由明確的細胞淵源結合發育的時間點，我們便可以知道E細胞是在何時由B細胞分裂而來。建立線蟲的細胞淵源相當的重要，因為只有藉由對正常野生種內每個細胞何時分裂、分裂成幾個細胞、分裂後的細胞命運清楚地了解，才能夠依此找出有變異的突變種，對細胞分裂的機制加以研究。

十幾年來，蘇斯頓每天都花上許多時間，盯著相位差顯微鏡下正在分裂的線蟲胚胎，一直到胚胎孵化成為幼蟲，幼蟲再長成成蟲。終於在1977年，蘇斯頓與當時跟他合作的霍維茲，首先發表了幼蟲到成蟲發育的細胞分裂系譜，之後於1983年，他又與另外三位科學家一同發表胚胎發育的細胞淵源。他的研究結果定位

線蟲體內每一個細胞的位置、命運及分裂過程，告訴世人線蟲是如何由一個受精卵發育成為一隻具有959個體細胞的成蟲。

在探索細胞系譜的過程中，蘇斯頓發現，線蟲有固定的細胞分裂系譜，也就是每一隻蟲身上，A細胞都一定會分裂成B和C，而E細胞一定也都是由B分裂來的，研究者可以清楚地知道線蟲體內每個細胞的來歷，對突變種的界定會相當明確。例如某個體細胞在線蟲中本來只有一顆，那出現了兩顆此細胞的線蟲，絕對是發生了變異的突變種。

此外，蘇斯頓還觀察到，蟲體內總是有131個體細胞，會在某段發育時期死亡，形成像鈕扣狀的細胞屍體(圖四)，並在出現後一個小時內消失。這樣的細胞死亡發生在特定的細胞、時間與地點，彷彿是在發育的藍圖中早已計畫好的。而蘇斯頓是第一個在活體生物中觀察到這現象的科學家，他稱為「計畫性細胞死亡」。此外他也找到了第一個跟細胞死亡有關的線蟲突變株──*nuc-1*，並證明*nuc-1*基因和死細胞內DNA的分解有關。

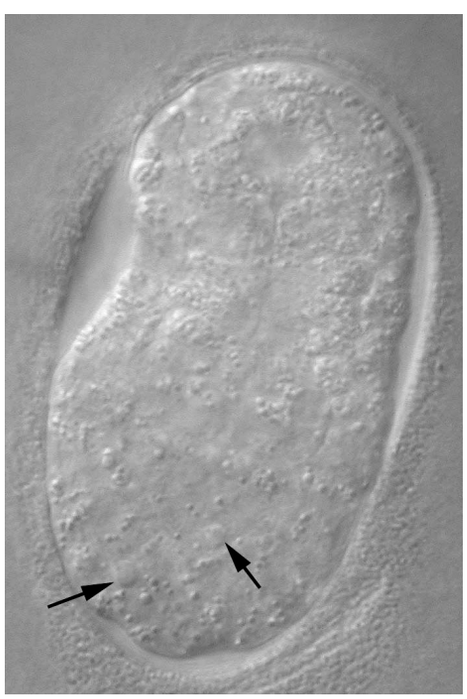
這些進行計畫性細胞死亡的細胞中有80%是屬於線蟲神經細胞，雖然在早先就有神經科學領域的科學家，主張哺乳類神經細胞會進行細胞死亡來促進神經系統的形成，但是都無法在活體中觀察。蘇斯頓的研究便是提供計畫性細胞死亡的活體證據，並且讓研究可以在活體中進行，而霍維茲則是將此研究拓展到分子層次的功臣。

計畫性細胞死亡的基因

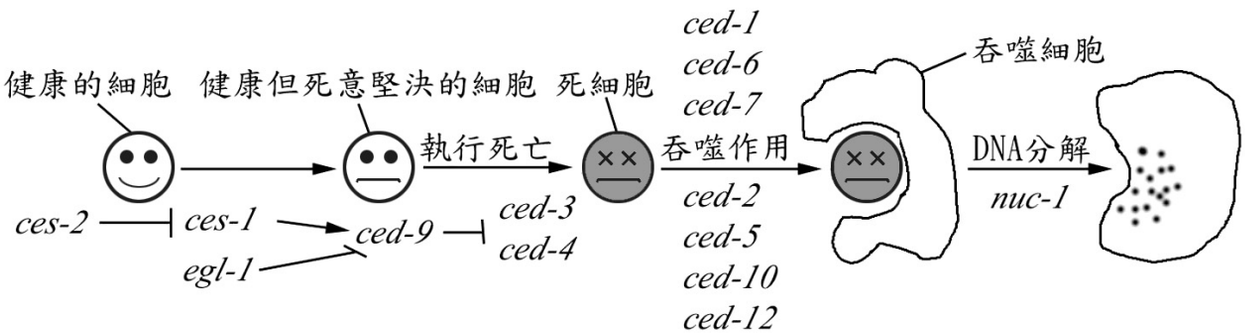
霍維茲是一個生物界的奇葩，一開始他並非志在生物學，大學時主修數學及經濟學，在麻省理工學院拿到學士學位，但是他在麻省理工學院遇到了當時研究細菌及噬菌體的諾貝爾獎得主盧瑞亞（Salvador E. Luria），讓霍維茲對現代生物學產生濃厚的興趣，因此在1968年他便進入哈佛大學攻讀博士學位，主修生物學。霍維茲之後進入劍橋，加入布瑞納的研究團隊。

霍維茲繼續布瑞納和蘇斯頓在線蟲遺傳分析及細胞分裂系譜的工作。從1970年起，霍維茲設計了一連串的遺傳分析實驗，搜尋調控計畫性細胞死亡的基因，後來他藉由細胞屍體數目的變異，挑出和計畫性細胞死亡機制有關的基因。1986年，他在*Cell*期刊發表精湛報告，說他找到了兩個「殺手基因」──*ced-3*及*ced-4*，他證明這兩個基因和計畫性細胞死亡的執行有直接相關，若這兩個基因發生突變，幾乎沒有一個細胞可以進行計畫性細胞死亡。

之後，霍維茲又發現了另一個基因*ced-9*。這個基因則藉由抑制*ced-3*及*ced-4*的作用，扮演了保護細胞避免其進行細胞死亡的角色，當*ced-9*失去了功能時，會因為有過多細胞進行細胞死亡，而造成整個胚胎的死去；因此，如果說*ced-3*和*ced-4*是執行細胞死亡的劊子手，那麼*ced-9*



圖四：線蟲胚胎，圖中箭頭所指即為鈕釦狀的細胞屍體。（作者 提供）



圖五：細胞死亡中心程式。（作者 提供）

就是保護細胞生命安危的保鑣。接著，有數個在細胞死亡後，負責認屍、收屍及毀屍相關的基因也被霍維茲的團隊找了出來，他們發現當這些基因突變時，會出現相當多沒被吞噬的細胞屍體。

此外更令人興奮的是：*ced-3*、*ced-4* 及 *ced-9* 是人類基因體中的同源基因，這使得研究者可以將線蟲對死亡基因的研究，應用到人類對計畫性細胞死亡機制的探討之上。

從霍維茲及之後所衍生的研究，科學家建立出一個「計畫性細胞死亡中心程式（central cell-death pathway）」（圖五），將一個細胞從健康到被毀屍滅跡分成被不同基因調控的幾個步驟：首先要先決定哪個細胞要進行細胞死亡，在線蟲中目前找到兩個基因（*ces-1* 及 *ces-2*）和決定特定細胞的死亡相關；接著就是細胞死亡的執行，除了剛剛提到的 *ced-3*、*ced-4* 及 *ced-9*，還有 *egl-1* 參與其中的進行。從分子層面的角度來看，CED-9 本來將 CED-4 固定在粒線體的膜上，一旦 EGL-1 和 CED-9 形成了鍵結，便會使 CED-9 釋放 CED-4，而使 CED-4 得以進入細胞質活化 CED-3，CED-3 是蛋白酶，因此 CED-3 的活化可能對細胞造成一連串的毀滅過程（圖六）；在細胞死亡之後，細胞屍體會由鄰近的細胞吞噬，這樣的一個過程有 *ced-1*、*ced-2*、*ced-5*、*ced-6*、*ced-7*、*ced-10* 及 *ced-12* 這 7 個基因牽涉其中，目前的研究將這 7 個基因分為兩組，傳遞兩條不同的訊息路徑，除了 *ced-7* 之外，其他六個基因都是只作用在執行吞噬動作的細胞中所需要；最後，則是細胞屍體的 DNA 在吞噬細胞中被分解，蘇斯頓所發現的 *nuc-1* 即作用於此過程。

這些藉由線蟲所了解的內幕，對於計畫性細胞死亡機制的了解有非常大的貢獻，而其他利用線蟲這個新建立的模式動物實驗系統，也可以有效率地探討發育生物學及分析訊息傳導的問題。因此線蟲對我們在了解生物器官發育上有相當重要的貢獻，這也是布瑞納等人獲獎的重要原因。針對計畫性細胞死亡的研究只是其中的一個成功的例子，由於這套「細胞死亡程式」在線蟲中的發現，科學家可以很快地在人類基因體中，找到這條死亡路徑的同源基因，並且證明在這相差懸殊的兩個物種間的基因，竟有相當的保守性。睿智的霍維茲運用線蟲這匹良駒，揭開計畫性細胞死亡機制神秘的面紗，並找出與人類的關連，使我們能有機會解決人類細胞死亡相關的疾病。

今年10月，當霍維茲在義大利接到他獲頒諾貝爾生物醫學獎的消息時，他說：「我非常興奮能和這兩位傑出的朋友、研究同仁一起得到這個至高無上的獎；然而如果有一天，我們對於細胞

死亡的研究可以真正的應用在人類疾病的治療，這會讓我更加的高興。」可以看出一個科學家以人為本的襟懷，念茲在茲地想為人類福祉盡一份心力的精神，或許這才是科學研究的精髓。

死不逢時

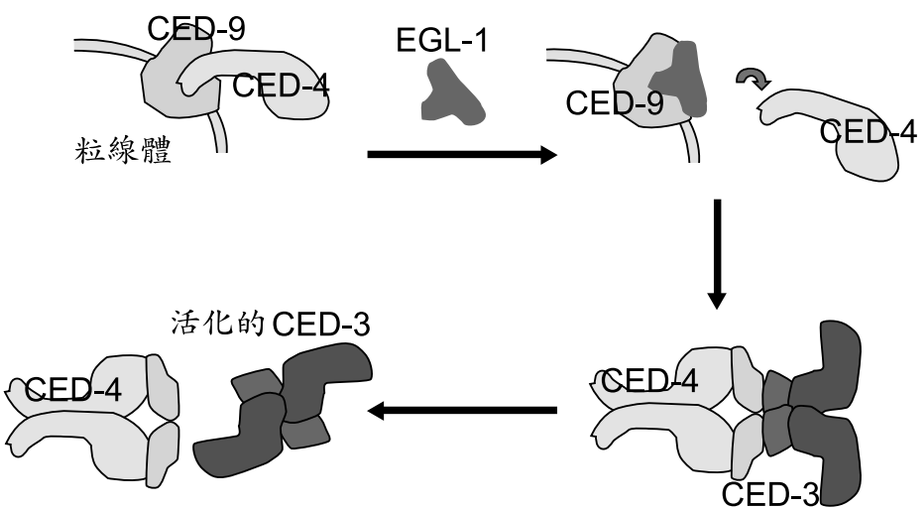
如果細胞死亡這檔子事出了問題，即便只是一個細胞的生死小事，也會造成個體的危機。該死的細胞沒死，最為人所知的例子就是癌症的發生。當一個細胞的遺傳物質受到嚴重的損害且無法進行修復時，正常的情況這個細胞會進行細胞死亡，避免不正常的細胞在個體內繼續地繁衍；然而若是該細胞沒有進行細胞死亡，再加上遺傳物質受到損害的結果是讓調控細胞增生的基因失去控制，則此時不正常的細胞便會大量的增生，形成癌症。此外自體免疫功能失調，如紅斑性狼瘡，也是因為分化不完全的免疫細胞沒有照計畫進行細胞死亡，才會失控地攻擊體內的細胞。

當不該死的細胞進行了細胞死亡，如果又很不巧的是腦部的神經細胞，便導致了阿茲海默症，也就是讓前美國總統雷根認不出他的愛妻南西的罪魁禍首──老年癡呆症；而愛滋病也是因為免疫細胞進行了不該進行的細胞死亡，而使人體失去了保護自己的屏障。以上種種駭人聽聞的疾病，皆是因為細胞死亡這條路徑發生了問題，而知識就是力量，我們對細胞死亡機制有愈多的了解，治療這類的疾病勝算就愈大；目前已經有很多對於癌症的治療，諸如引發細胞的「自殺反應」等等，便是應用細胞死亡機制的研究，日後更大的挑戰則是希望能只挑起癌症細胞的死亡訊息，使副作用降到最低。

結 語

結合了布瑞納的遠見、蘇斯頓的耐心與敏銳的觀察力及霍維茲的智慧，使得這隻肉眼勉強可見的小蟲(線蟲)，有機會讓人們對於細胞死亡的了解獲得大躍進，以黑馬之姿一舉拿下2002年諾貝爾生物醫學獎。然而目前對於細胞結束自己生命的過程，其實大部分都待我們去探索。最近霍維茲與漢格特納的團隊們，都發現鄰近細胞對於正在進行計畫性死亡細胞的吞噬作用，會促進該細胞的死亡，如果吞噬作用沒有發生，在一些環境下細胞竟會死而復活；此外，「細胞死亡中心程式」的上游及下游的分子都仍不明朗，因此還有很多的問題等著我們去找出解答。

這榮耀的諾貝爾桂冠，給了對於細胞死亡及線蟲研究的研究者相當大的鼓舞及振奮，同時，這也是殷切的期許。



圖六：細胞死亡執行過程的分子層面。（陳思穎　繪製）

黃才芳：就讀台灣大學動物所
吳益群：任教台灣大學動物系