

# 知識天地

## 解密自閉症

薛一蘋研究員（分子生物研究所）

### 神經科學與你我

神經科學被認為是二十一世紀科學界最後的疆域 (the last frontier of science)。這個極端困難的挑戰，當然是肇因於神經系統運作時高度的複雜與精密。在實質面上，要用我們的腦來研究我們的腦，感覺比湯姆克魯斯的“不可能的任務”更加不可能。而人類因強烈好奇心的驅使，早在遠古時期，就想敲開這個堅硬頭顱，看看裡到底隱藏著什麼樣的秘密。拜科學之進展，我們得以如拼圖般的一塊塊的拼湊出大概的輪廓。

除了滿足我們的好奇心，神經科學的研究亦非常入世，可實質貢獻於社會。眾所皆知，神經系統的疾病造成高度發展社會非常嚴重的醫療負擔。為人所熟知的神經退化性疾病，如阿茲海默症(俗稱老年癡呆症)、帕金森症、漸凍人症等，主要影響老年人或成人，在高齡族群的盛行率高，引起大家極大關注。而在年齡的另一端，早期神經系統發育異常所造成的疾病，其盛行率之高，也是不遑多讓，甚至有過之而無不及。以自閉症 (autism spectrum disorders) 為例，美國疾病管理局在2014年最新的統計數字顯示，其發生率為六十八分之一，其中男童發生率又為女童的五倍左右。早在二、三歲左右，自閉症患者就有明顯病徵可被診斷，不論是對患者本身或其家屬，影響都是一輩子的事情。

### 自閉症之一二

自閉症的主要症狀是社交能力低落、語言和非語言溝通之障礙、以及固執而缺乏應變能力。病徵的嚴重程度可以有極大的差異。由喪失語言溝通能力的重度自閉症，到所謂的高功能的亞斯柏格症，以現代醫學分類的方式，均歸屬於自閉症。除了上述的主要病徵，自閉症患者伴隨有不同程度及不同種的合併特徵，是一群相當廣大且異質的病患。因為影響層面大，先進國家（如美國）無不投注極大的資源於自閉症的研究。研究疾病，了解致病原因當然是最重要的第一步。現今的研究成果認為，自閉症是因早期神經系統發育異常所致。造成發育異常的原因可分兩大類 – 遺傳和環境。環境因子複雜且難以控制，對研究自閉症而言，較難有著力點。相對的，一旦找到自閉症的遺傳因子，在實驗室裡可以輕易的控制實驗變因，研究為何特定基因突變可以造成自閉症。匯集多個基因的研究成果，就有可能歸納出造成自閉症的通則。

利用最先進的全基因定序技術，在數千名自閉症患者身上已找到數百個基因突變點。這麼多的突變基因，可能就是自閉症高度異質的原因之一。而這麼多的突變基因，著實令研究者非常頭痛，如何著手？只能先藉助生物資訊的統計分析，利用已知的基因功能和基因之間的網路，找出這些基因彼此的關聯性。這些基因有些有很強烈的作用，單一基因突變就能導致自閉症；有些則明顯需要結合其他多個突變基因，才能致病。既然知道這些資訊，研究者當然先研究強效基因的作用機制，實驗因素容易操控，結果的差異性也較明顯，容易判讀。

### 自閉症與TBR1

我們實驗室一直關注的研究課題是神經細胞發育分化的分子機制。神經細胞需要分化出很多細長的結構，如軸突 (axon) 及樹突 (dendrite)，以便和其他細胞進行訊息的傳遞。訊息傳遞的位置 – 突觸 (synapse)，就是在上一個神經細胞的軸突與下一個神經細胞的樹突之間的接觸點。我們相信，了解這些神經細胞結構的形成與分化，有助於揭密神經系統迴路形成與功能之調控。這些都是非常基礎的研究工作，出發點和疾病沒有關係。就在我們逐一研究十來個基因對神經細胞發育的調控的同時，國外病患基因定序的結果接連指出，我們所研究的基因不是和自閉症有關，就是智能發育遲緩或失智症的致病基因。其中之一就是T-brain-1 (簡稱TBR1)。

TBR1是專一在大腦神經細胞表現的轉錄因子 (transcription factor)。先前的研究已知TBR1控制大腦皮質及杏仁核的發育，調控神經細胞軸突的分化與生長。雖然不了解TBR1突變如何引發自閉症，病患基因定序分析認為TBR1是一個導致自閉症的強效基因。在我們的細胞裡，除了位於性染色體的基因，所有基因都是成對的。在2012年，O' Roak等人的研究指出，在患者身上，只有一個TBR1基因有突變，另一個是正常的。我們研究TBR1的分子功能，已有十幾年的經驗。十年前，我們的研究已預測，單一TBR1基因的缺失應可導致神經系統的功能損傷。

在過去十年中，我們利用單一TBR1基因缺失小鼠（Tbr1<sup>+/-</sup> mice）來研究缺少TBR1的生理變化。我們發現TBR1缺失小鼠會喪失腦中特定的白質結構 – 後段前連合 (posterior part of anterior commissure)。因為後段前連合具有負責聯絡兩個大腦半球的杏仁核之功能，缺少後段前連合顯示杏仁核的神經迴路異常。的確，實驗證明當TBR1缺失時，同側杏仁核內部的連結也有缺陷。神經迴路的異常會導致訊息無法正確傳遞，神經細胞則因無法接受適當的刺激而缺少正常的反應，導致神經活性低落。由於杏仁核掌控社交活動、情緒反應、恐懼記憶形成等功能，我們接著分析TBR1缺失小鼠在這些行為的反應，發現此突變小鼠有明顯的行為缺陷，含社交及溝通能力低落、學習記憶能力較差、缺乏變通能力。這些異常行為非常類似自閉症患者的行為特徵。因為TBR1缺失小鼠的杏仁核活性低落，如果這真的是自閉症的成因，增強杏仁核活性應可以改善TBR1缺失小鼠的行為缺陷。我們選擇了D-環絲胺酸 (D-cycloserine)，它可以增加神經細胞的活性，但又不曾因過度興奮而導致神經細胞死亡。我們發現，TBR1缺失小鼠的行為缺陷都可以用D-環絲胺酸改善。不論是腦內局部注射在杏仁核，或是腹腔內注射D-環絲胺酸，均可以有效促進小鼠社交及溝通能力、學習記憶能力、以及應變能力。未來D-環絲胺酸可望運用於臨床治療。

為了確認TBR1調控杏仁核迴路的分子機制，我們利用微陣陣找到至少一百二十幾個受TBR1調控的基因，並證實其中四個TBR1標的基因（即GRIN2B、NTNG1、CDH8和CNTN2）亦控制杏仁核的神經迴路與活性。在胚胎時期，操控NTNG1、CDH8和CNTN2這三個基因在杏仁核神經細胞的表現，可以有效復原TBR1缺失小鼠杏仁核的神經迴路。有趣的是，GRIN2B、NTNG1和CDH8被認為和自閉症有關。除了這三個基因，另外尚有二十一個TBR1標的基因亦與自閉症相關，或為聽讀障礙的致病基因。這可能可以解釋為何TBR1與自閉症有強烈關聯性。TBR1可能擔任主宰基因的角色，控制一群自閉症相關基因的表現。藉由這一群基因，TBR1有效影響杏仁核迴路與活性，控制社交活動及記憶形成。因此，我們的研究不只證實TBR1單一基因在自閉症的角色，更強調一群自閉症致病基因可能利用類似TBR1的作用方式影響特定腦部活性，控制認知及社交行為。

自閉症患者的臨床研究清楚的顯示，腦部迴路異常是造成自閉症的原因。然而基因如何控制自閉症相關迴路形成？迴路異常如何導致自閉症的異常行為？我們的研究是第一個發現特定自閉症致病基因突變會導致特定神經迴路缺失，進而引發自閉症行為的文獻。另外，這些缺陷肇因於早期的發育異常，導致爾後迴路異常及低落的神經活性。雖然我們不能回頭去更正早期發育的異常迴路，我們的研究證明，適當糾正成體的神經活性，是有機會大幅改善行為的缺陷，這對自閉症的治療提供新穎的思考與方法。

## 結語

我們對自閉症研究的貢獻其實是無心之柳。用納稅義務人所繳納的錢做研究，我們非常高興我們的研究成果能對納稅義務人有所回饋。在學術的殿堂裡，我們悠游於基礎研究，出發點其實是因為自己的好奇心。所裡已退休的老師曾戲稱，我們是一群消耗社會成本的“米蟲”。但是，就算是“米蟲”，也是“有用的米蟲”。

## 深入閱讀:

1. O' Roak, B.J., Vives, L., Fu, W., Egertson, J.D., Stanaway, I.B., Phelps, I.G., et al. (2012a). Multiplex targeted sequencing identifies recurrently mutated genes in autism spectrum disorders. *Science* 338, 1619–1622.
2. \*Huang, T.-N., \*Chuang, H.-C., Chou, W.-H., Chen, C.-Y., Wang, H.-F., Chou, S.-J., and Hsueh, Y.-P. (2014) Tbr1 haploinsufficiency impairs amygdalar axonal projections and results in cognitive abnormality. *Nature Neuroscience* 17:240-247. (\* co-first authors)
3. Chuang, H.-C., Huang, T.-N., and Hsueh, Y.-P. (Sept. 2014) Neuronal excitation up-regulates Tbr1, a high-confidence risk gene of autism, mediating Grin2b expression in the adult brain. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 8:280.
4. Chuang, H.-C., Huang, T.-N.\*, and Hsueh, Y.-P.\* (2015) T-Brain-1 – a potential master regulator to control autism spectrum disorders. *Autism Research* (in press) (\* co-corresponding author)