幹細胞與克隆

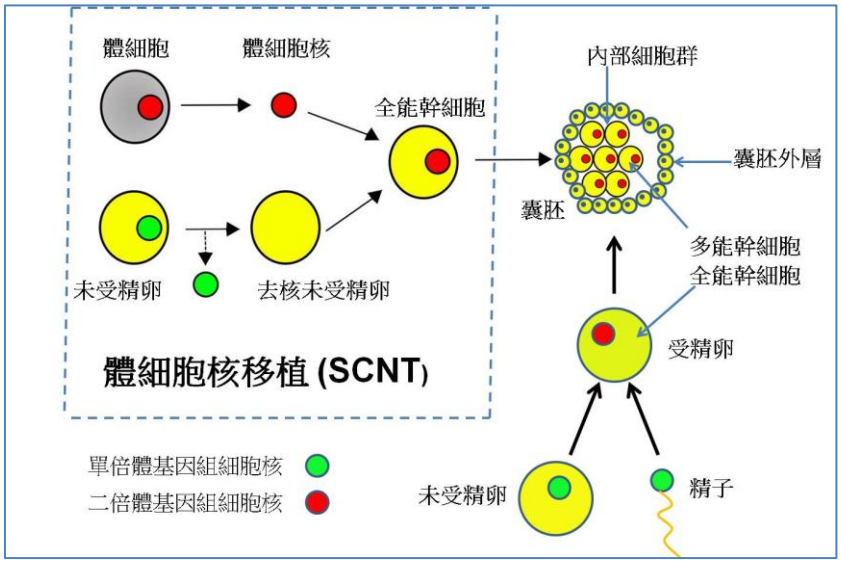
賴昭正
前清大化學系教授、系主任、所長；合創科學月刊

> 因被極有彈性的膜和果凍層包圍著，非洲爪蟾的卵與其它兩棲動物的卵不同，使得微量移液器無法穿透，所以我第一次嘗試在非洲爪蟾中移植細胞核完全不成功。……如果實驗-或其它事情-沒有立即成功，請不要放棄！
>
> -格登（John Gurdon）
> 2012 年諾貝爾醫學獎

在「認識病毒全攻略！病毒的發現、與細菌的不同、科赫假說和致病機制」一文裡，筆者提到細胞是生命的基本單位，它主要由基因組（genome）、細胞膜（cell membrane）、細胞質（cytoplasm）、和核醣體（ribosome）組成。細胞質為執行細胞生長、代謝、和復制功能的地方，為細胞中的微觀工廠；核醣體將遺傳密碼從核酸的分子語言翻譯為氨基酸的分子。細胞本身含有代謝酶，因此有營養系統；不需宿主活細胞，即可自行繁殖。

高等動植物的細胞不像細菌，具有真正的細胞核(nucleus)，故稱為真核細胞(eukaryotic cell）。它們沒有細菌的「質粒」(plasmid)，但卻有像消化系統一樣的「線粒體」（mitochondria）來吸收營養，分解營養，並為細胞創造能量豐富的分子。

幹細胞



在大多數物種中，只有兩種完全不同類型稱為「配子(gamete)」的生殖細胞：卵子與精子。卵子是生物體中最大的細胞，而精子則是最小的；它們可以說是「發育不完全」的精簡細胞：卵子只具有細胞核及細胞質，精子則只具有細胞核及線粒體；它們的細胞核內均只有「發育完全」之細胞的一半染色體(稱為「單倍體基因組」）而已。儘管如此，卵子還是是最引人注目的動物細胞：因為一旦被精子激活(精子與卵子融合，稱為「受精」，註一)，它可以在幾週內產生一個全新的個體。

人類的卵子受精後約五到六天，就會分裂形成大約一百個細胞的囊胚(blastocyst)，見圖右。囊胚由內部細胞群(inner cell mass) 及囊胚外層(trophectoderm)組成：前者將繼續分裂發展成胚胎(embryo，註二)，後者則將附著在子宮內膜成為胎盤(placenta)，保護和滋養發育中的胚胎。因為受精卵(zygote)可以分裂產生所有的細胞(包括胎盤)，故稱為「全能幹細胞(totipotent stem cell) 」。內部細胞群的細胞則因能繼續分裂發展成生殖細胞及體細胞(somatic cell)的人體各部位器官，故稱為「多能幹細胞(pluripotent stem cell)」，又稱為「胚胎幹細胞(embryo stem cell)」，簡寫為 ES。

生殖細胞及體細胞一旦形成後，就有其特定「專業化」的功能，不能再如幹細胞一樣轉換成其它細胞。因此自 20 世紀初以來，一直困擾細胞生物學家的問題是：體細胞在基因上與它們所源自的受精卵相同嗎？一個受精卵如何會在胚胎分化中形成許多功能完全不同的體細胞呢？這些體細胞又如何記得繼續分裂成同樣的體細胞呢？

布里格斯(Robert Briggs) 和金(Thomas King) 於 1952 年在活體生物體中進行了首次青蛙核移植(nuclear transfer) 實驗：將一個早期胚胎細胞核移植到去核的卵細胞中。他們發現不同發展階段的胚胎核可以造成非常不同的結果：早一天的可以繼續發展成青蛙，晚一天的則胎死腹中。此結果顯然回答了第一個問題：細胞核的遺傳物質在開始分化時會發生不可逆轉的改變，如重新排列遺傳物質使其變得更加專業化、永遠有效地關閉不使用的基因、甚或拋棄數百個不再需要的基因等等。

克隆教父—約翰・格登爵士

格登(John Gurdon)1933 年出生於英國漢普郡(Hampshire)迪彭霍爾(Dippenhall)。就讀於伊頓公學(Eton College)寄宿學校時，成績不是特別好。在上了一學期的生物學後，老師寫了一份報告說：「我相信格登想成為科學家，但從目前的情況來看，這是相當可笑的。如果他不能學習簡單的生物學事實，他就沒有機會從事專家的工作，這對他和那些必須教他的人來說都純粹是浪費時間。」所以格登畢業後申請了牛津大學的古典學課程，但招生導師因為缺少理科生，告訴他說：「我很高興地告訴你，我們可以接受你，但有兩個條件：一是你得立即開始，第二是你不要學習你參加入學考試的科目。」就這樣，格登終於追求到他的夢想，最後在牛津大學取得發育生物學博士學位。你說人生不是一連串的巧合與意外麼？

1956 年格登開始了核移植的博士研究：但不是移植正在發展中的胚胎細胞核，而是移植已經發展完全的體細胞核到去核的未受精卵內—稱為「體細胞核移植(somatic cell nuclear transfer，SCNT，見圖左)」。格登早期得到的結論因與布里格斯和金的結論相左，因此受到了強烈的批評。1962 年，格登將西部矮爪蛙（學名 Hymenochirus curtipes）的腸細胞核移植到未受精、去核的非洲爪蟾卵中，竟然發現這種經過改造的卵細胞可以長成一隻新的西部矮爪蛙！這毫無疑問地證明了：(1)成熟的細胞核仍含有形成所有類型細胞所需的遺傳訊息(即與受精卵具有同樣的基因)，(2)幹細胞在發展中專業化成體細胞是可逆的。

克隆哺乳動物

格登成功地從體細胞核複製/克隆(clone)了兩棲類動物青蛙，當然立刻有科學家想到是否可以用同樣的方法來複製哺乳動物。可是為什麼要等到 30 多年才出現克隆的多莉羊 (Dolly the sheep，註三) 呢？原來格登選青蛙是有其理由的：兩棲類動物的卵子都是透明、且非常大，一產就大量排出體外。即使這樣，他的成功率還是低的；還好正如筆者在「愛因斯坦所相信的上帝，是你以為的那位上帝嗎？」一文裡所說的「要證明上帝存在比證明祂不存在簡單多」，格登只要在幾百個實驗中不被合理質疑地克隆出一隻青蛙就夠了。

多莉的生命始於試管中的一個單細胞(取自芬蘭多塞特羊的乳腺細胞核和蘇格蘭**黑臉**羊的去核卵細胞)，六天後在實驗室確認正常發育後，胚胎就被轉移到代孕母親體內，於 1996 年 7 月 5 日出生。但在英國羅斯林研究所(Roslin Institute) 發表論文前，**白臉**多莉的出生一直被保密。1997 年 2 月 22 日宣布她的誕生後，全世界的媒體紛紛湧向羅斯林去一睹這只如今聞名的綿羊風采，也引發了媒體關於克隆倫理的爭論。

現在大部分先進國家都已經禁止克隆人的實驗，因此各地的實驗室大都只克隆人類胚胎細胞，作為研究及治療用。2018 年，中國科學院上海神經科學研究所首次利用 SCNT 成功克隆靈長類動物，誕生了兩隻名為「中中」和「華華」的食蟹雌獼猴。

誘導多能幹細胞

到了 21 世紀初，研究胚胎幹細胞的科學家已經鑑定出二十多個似乎對胚胎幹細胞至關重要的基因。這些基因的功能不一定相同：有些對於自我更新很重要(即一個 ES 細胞分裂形成兩個 ES 細胞)，而另一些則用來阻止幹細胞分化。科學家也找到如何在培養皿中維持多能胚胎幹細胞的方法，及如何改變培養條件使其分化成各種細胞類型，如肝細胞、心臟細胞、和神經元等。但他們能否利用這些資訊將完全分化成熟的體細胞變成像胚胎一樣的幹細胞嗎？

2006 年，日本京都大學的山中伸彌 (Shinya Yamanaka) 和博士後研究員高橋 (Kazutoshi Takahashi) 終於宣稱只要透過其中四個基因，即可將小鼠纖維母細胞(只能產生其它纖維母細胞）重新編程(reprogramming)，成能產生多種不同類型細胞的多能幹細胞。他們將這樣製造出來的幹細胞稱為「誘導多能幹細胞（induced pluripotent stem cell, iPSC）」。山中伸彌與格登兩人因研究出如何將專業化的成熟細胞重新編程使其具有多能性，而一起榮獲 2012 年諾貝爾醫學獎。

重新編程

精子和卵子像體細胞一樣，也是由受精卵分化出來了，所以應該是一個高度專業化的細胞，但它們融合成受精卵後又變成全能幹細胞，因此顯然融合後的細胞核被卵子微觀工廠的細胞質重新編程，失去大部分分化時的分子記憶(尤其是精子核，變成一張幾乎完全空白的畫布)。格登與複製綿羊的維爾穆特（Ian Wilmut）和坎貝爾（Keith Campbell）就是利用了這種重新編程現象，將體細胞核插入卵細胞質中創造出了新的克隆。

卵子的細胞質顯然就像一個巨大的分子橡皮擦，它能非常迅速地在 36 小時內完成這個重新編程過程，擦掉了細胞分裂過程中專業化的修飾痕跡(imprinting)。在提高山中伸彌之體細胞重新編程為 iPSC 細胞的效率(遠低於 1%)和速度(需要數週) 上，分子生物學家雖然已經取得了很大進展，但與自然界一比，仍相差甚遠。

筆者寫這篇文章的動機事實上是出於想解救同性戀的傳宗接代問題。研究顯示雖然不存在單一的同性戀基因，但來自數十萬人的 DNA 也揭示了一些與同性性行為有關的基因變異。在「同性戀、熊貓、與適者生存」(科學月刊 2014 年 7 月號，見《我愛科學》)一文裡，筆者提到：傳宗接代為「種族生存」的必要條件；同性戀者不能傳宗接代，不是遲早將從地球上絕跡嗎？一個筆者想到的解救的方法是：像體細胞核移植一樣，用同性「夫妻」的配子核取代受精卵中尚未融合的雌性與雄性原核(pronuleus)，希望它們融合後能繼續發展成胚胎……。筆者正在幻想如何申請專利賺大錢時，卻發早在 1980 代，肯亞裔的英國發育生物學家蘇拉尼(Azim Surani，註四) 就已經開始了類似的研究。他以老鼠為對象的實驗毫無疑問地證明了哺乳動物的繁殖不只是傳遞系統的問題：不僅需要兩個單倍體基因組來融合形成一個二倍體核的受精卵，事實上其中一個必須來自母親，另一個來自父親！！！顯然卵子之細胞質的重新編程不是 100%地擦掉了所有分裂過程中的修飾、專業化痕跡，而是至少保留了一些必要的基因來源資訊！…… 夢想破滅，只好重做馮婦執筆寫文章(保證不是人工智能代寫的)，悲哉！請點個「讚」以聊慰筆者之失望吧！先謝啦！

結論

幹細胞具有非凡的自我更新潛力：在生命早期和生長過程中可以在體內發育成許多不同的細胞類型。幹細胞可以分成多能幹細胞和「成體幹細胞(adult stem cell) 」兩類。前者就是我們討論過的胚胎幹細胞和誘導多能幹細胞；後者也稱為「體幹細胞(somatic stem cell) 」，它們已在許多器官和組織中被發現（通常在特定的解剖位置，註五）。這些特定器官的體幹細胞雖然不是多能的，但在生物體的整個生命週期中，卻扮演著非常重要的內部修復工作：它們可能會長時間保持靜止（不分裂），直到需要替代因正常磨損或疾病而損失的細胞時才被活化。

即使法律上不准複製人，相信讀者早已看出幹細胞在醫療上的可能作用：如果我們能用與我們體內相同的新細胞來取代罹患第一型糖尿病時失去的胰島素分泌細胞、或阿茲海默症失去的腦細胞、或骨關節炎失去的軟骨生成細胞等，那就不必擔心器官移植所造成的免疫系統排斥問題，或缺乏可用來移植的器官的困擾。這種使用克隆幹細胞來作為醫學治療用的領域稱為「治療性克隆(therapeutic cloning) 」。

本文只回答了 20 世紀初以來一直困擾細胞生物學家的第一個問題：體細胞在基因上與它們所源自的受精卵相同嗎？至於如何重新編程、一個受精卵如何在胚胎分化中形成許多功能完全不同的體細胞、這些體細胞又如何在分子層面上被修飾使其只能繼續分裂成同樣的體細胞等更複雜的問題，則需等待新興的「表觀遺傳學(epigenetics)」來回答。

********** 註 **********

（註一）在某些生物體中，精子並不是嚴格必需的，它們可以透過各種非特異性化學或物理處理來人工激活卵子；例如一些脊椎動物(如一些蜥蜴)的卵子通常是在沒有精子活化的情況下繁殖的，稱為「孤雌生殖(parthenogenesis)」 。

（註二）像胎兒(fetus)的生命從什麼時候開始一樣，胚胎從什麼時候開始也沒有嚴格一致的共識。因當囊胚成功地植入子宮內膜時，母體會立即開始產生荷爾蒙來支持懷孕，筆者認為這應該是很好的胚胎起始點。到受精後大約八個禮拜，大部分人體器官和系統均已成型，也可偵測到心跳。第八週後稱為胎兒。

（註三）以美國西部鄉村歌手 Dolly Parton 的名字命名。

（註四）因試管嬰兒而獲得 2010 年諾貝爾獎之愛德華茲（Robert Edwards)的博士學生。

（註五）不是所有的器官都有這些體幹細胞，例如心臟就沒有，因此一旦數以百萬計的心肌細胞因缺氧(心肌梗塞)而死亡時，人體內就沒有自然系統可以取代它們。反之，肝臟則是具有高度再生能力的內臟器官，它可以在化學損傷或手術切除後再生。

********** 延伸閱讀 **********

- 《我愛科學》（華騰文化有限公司，2017 年 12 月出版）。
- 「日常生活範式的轉變：從紙筆到 AI」(泛科學，2023/03/08) 。
- 「要被接受，需有不被合理質疑的證據 從科學與蔡博士學位事件討論起」(科技報導，2020年2月1日) 。