

出國報告（出國類別：進修）

題目：
美國維吉尼亞大學
神經科學部進修報告

服務機關：臺北榮民總醫院麻醉部
姓名職稱：師三級神經麻醉科主治醫師郭怡敏
派赴國家：美國維吉尼亞州夏洛茨維爾
出國期間：107.09.16 至 109.03.15
報告日期：109.04.01

目錄

摘要.....	p2
本文	
目的.....	p2
過程.....	p3
心得.....	p8
建議事項.....	p9
附錄.....	p11

一、 摘要

神經學疾病的基礎研究為近代臨床神經醫學的進展奠定重要的基石。美國維吉尼亞大學(UVA)為全美排名第二的公立大學，其醫學院的研究成果亦在全美名列前茅。職此次獲得良機前往維吉尼亞大學醫學院神經科學部 (Department of Neuroscience) 管家義 [Chia-Yi (Alex) Kuan] 教授的實驗室進行為期一年半的進修。管教授的研究主軸為新生兒缺血缺氧性腦損傷、成人腦中風、及外傷性腦損傷，此次有幸參與成人腦中風的新一代動物模式的開發，改善傳統腦中風動物模式對於血栓溶劑 tPA 的治療反應不佳的缺陷，除了參與研究工作外，研究成果在 2019 美國神經科學年會(Society of Neuroscience)張貼論文海報，亦完成論文撰寫投稿於科學期刊，日前獲得刊登接受函。希望未來能將所學貢獻於本院之研究與臨床醫療。

關鍵字: 缺血性腦中風(ischemic stroke), 動物模式(animal model), 組織型蛋白酶原活化因子(tissue plasminogen activator, tPA)

二、 本文

(1) 目的

職於 2011 年開始就讀博士班，進入實驗室接受基本細胞生物研究的相關訓練；2015 年經由博士班指導教授陽明大學李怡萱教授的推薦下，曾至管家義 [Chia-Yi (Alex) Kuan] 教授的實驗室學習腦中風動物模式。臺北榮民總醫院麻醉部長官相當注重年輕醫師的研究訓練，鼓勵醫師申請經費至國外進修、學習新知、開拓視野、增進研究能量並提升基礎與臨床研究的成果。為了更精進科學研究的

技巧、培養邏輯思考能力與豐富人生和體驗國外的研究環境，再度前往維吉尼亞大學神經科學部管家義教授實驗室繼續關於神經科學的動物研究。

在過去三十年來，全球投入無數研究經費探討神經退化性疾病的機轉與治療藥物的開發，然而成功進入臨床並且展現效果的治療仍然屈指可數，其中的瓶頸之一，為疾病研究的動物模式無法貼近臨床病人的真實情況。職在部內為神經麻醉科的成員，且博士班的研究主題為腦神經疾病，因此在管家義教授實驗室加入腦中風疾病以及神經退化性疾病的動物模式研究團隊，參與新一代動物模式的開發，希望能夠帶回相關領域的新突破，為本院的醫學研究帶來更進一步的發展。

(2) 過程

維吉尼亞大學位於美國維吉尼亞州的夏洛茨維爾，是由美國第三任總統湯瑪斯·傑佛遜（Thomas Jefferson）於西元 1819 年所創建的公立研究型大學，最初校董會成員最為知名的為三位美國總統傑佛遜、麥迪遜（James Madison Jr.）和門羅（James Monroe）。該校與加州大學洛杉磯分校並列為全美排名第二的公立大學（2018 年排名第三），以法學、建築、哲學等人文學院著稱，然而在醫學院與醫學研究領域亦有卓越的成就與師資，包括研發黃熱病疫苗的先驅 Walter Reed，以及三位諾貝爾生理醫學獎得主（1994, 1998 和 2005 年），代表在基礎醫學研究上有相當的貢獻。由 Dr. Kipnis 領導的神經科學部門，每年均有研究論文刊登在 Nature, Science 等排名卓越的科學期刊，並且成立 BIG (Brain, Immunology, Glia) center 致力於 brain immunology 的研究，對於退化性神經疾病的研究，亦有優異的成果。

職此次的進修是起源於 2015 年透過本人博士班指導教授，陽明大學生理所李怡萱教授的引薦，至當時任職於美國亞特蘭大埃默里大學（Emory University）的管家義教授的實驗室為期三個月的短期進修。爾後經管教授的推薦與協助，職

申請到其目前任職的維吉尼亞大學醫學院的神經科學部（Department of Neuroscience, School of Medicine, University of Virginia）作為期一年半的缺血性腦中風疾病的研究進修。

此次在管教授的神經科學實驗室進行進修研究，不論是分子生物研究或是動物模式研究的設備先進而齊全，任職於其實驗室的博士後研究員也各自領導自己的研究計畫，方向涵蓋新生兒缺血缺氧性腦損傷、成人腦中風及外傷性腦損傷。研究方法包括初代細胞培養、基因轉殖鼠繁殖、動物手術、藥物處理、動物組織切片染色、動物組織分子生物分析、流式細胞分析、以及動物行為分析等方法學，都有完整的介紹與學習。管教授的指派下，有資深的博士後研究員及助理教授擔任我的研究計畫指導，從參與他們手上進行中的研究項目開始，到設計與領導自己的研究計畫。在進修期間，亦經由管教授的安排與推薦，前往美國康乃爾大學（Cornell University, Weill Cornell Medicine, Brain & Mind Research Institute）向 Dr. Laibaik Park 學習腦血流的測量技術。

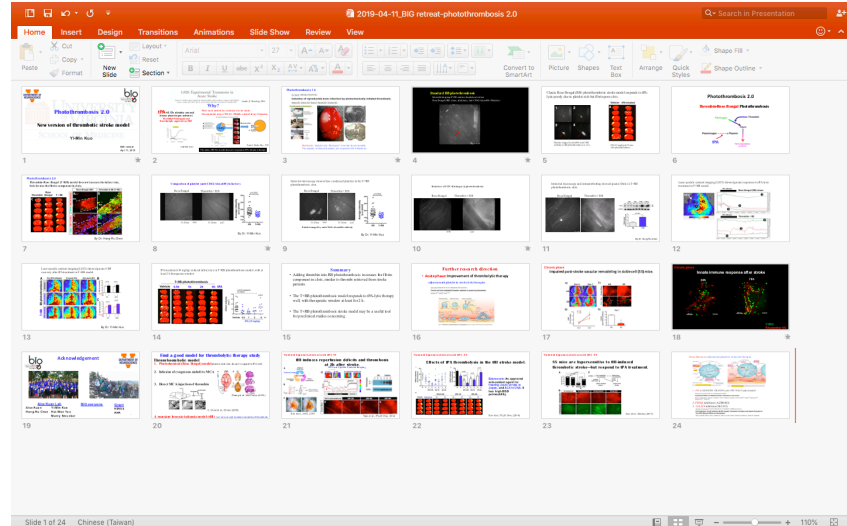
（圖為 Weill Cornell Medicine Research Building）



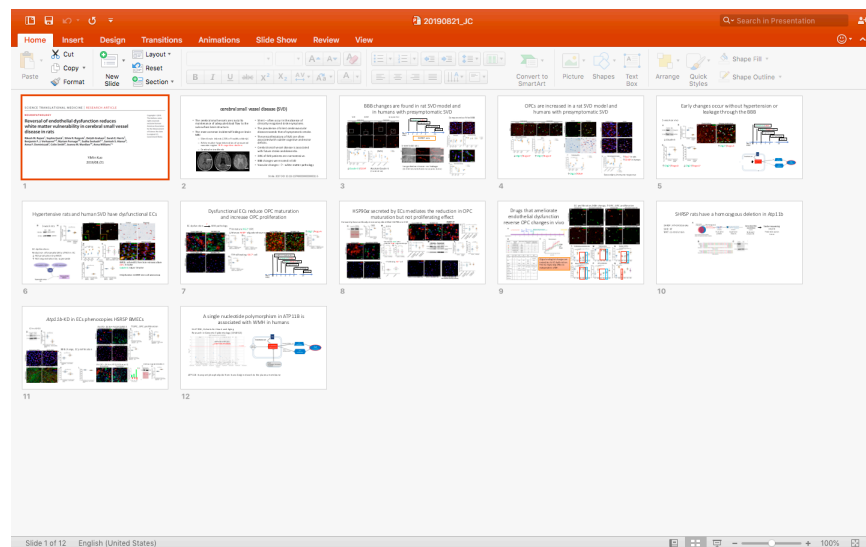
管教授的實驗室內部活動，每週有二到三次的實驗工作會議（Lab meeting）、進度報告（Progress report）、期刊研讀（Journal club），另外還有與管教授的一對一討論。在這過程當中除了了解實驗室每個博士後研究員的研究進度，也對於各

研究領域的新知作交流與更新，遇到研究瓶頸時大家一起集思廣益，得到除誤或是前進的方向。

(圖為職在 Progress report 的報告簡報)



(圖為職在 Journal Club 的報告簡報)



神經科學部內常規的學術活動主要有二。一是每週一中午舉行的 BIG center research-in-progress seminar (並且幽默地簡稱為 RIP seminar)，由 program 內的博士班學生到博士後研究員輪流報告自己的研究進度。由於與會提供貝果當午餐，因此又被稱為貝果會議。在這樣的會議中，由（幾乎是）全部部門的成員一起審視報告人的研究成果，並不吝於發表意見及提問，就好比是投稿前的內部論文審查，參與會議的有不同領域的部門成員，對於指出研究的盲點非常有幫助，亦增加不同

(圖為 CVCSN agenda)



CVCSN From Cells and Circuits to Behavior
Central Virginia Chapter of SfN
2019 Annual Meeting
April 12th-April 13th, University of Virginia School of Medicine

Mini-Symposia Topics:
• Novel Opto-tools
• In vivo imaging
• Glia!
• Philosophy, Behavior, and the Brain
• Epilepsy and Traumatic Brain Injury

Central Virginia Chapter Society for Neuroscience

Keynote speakers:
Juan Song, Ph.D.
UNC School of Medicine
Dissecting Neural Circuits for Adult Hippocampal Neurogenesis Regulation and Function

Stevens Rehen, Ph.D.
Federal University of Rio de Janeiro
D'or Institute of Science and Technology
Biological Effects of Psychedelics in Human Neural Cells and Brain Organoids

Registration: <http://bit.ly/CVCSN19>
Additional Info: CVCSNSymposium2019@gmail.com

Central Virginia Chapter of the Society for Neuroscience
2019 Annual Meeting
University of Virginia, School of Medicine

Central Virginia Chapter Society for Neuroscience

Friday, April 12th

1:00 PM – Registration and Poster Set-up Open
2:30 PM – Welcome
Introduction by CVCSN President
2:40 PM – Illuminating Cells, Circuits and Behavior with Opto-tools

Co-Chair: Anousheh Bakhti-Suroosh – Lynch Lab UVA
MIMI Shin – Venton Lab UVA
Speaker: Daniel English, PhD – Virginia Tech
Title: "Optoelectrodes"
Speaker: Jonathan Marvin, PhD – Janelia Farm, HHMI
Title: "Genetically Encoded KluSnF-Rs and iGABA_ASnF-Rs"
Speaker: Shen Zheng - Ai Lab University of Virginia

美國神經科學年會 (Society of Neuroscience) 是一年一度神經科學研究者重要的交流會議，每年與會的人數約為二至三萬人。職的研究主題之一：成人腦中風的新一代動物模式的開發，研究成果於 2019 年美國神經科學年會張貼論文海報，有幸與世界各地從事相關主題的學者進行交流。尤其與同領域著名學者卡昂大學 (Université de Caen Normandie) 的 Dr. Denis Vivien 的討論更是獲益匪淺，得到大師的讚許與鼓勵更是激勵繼續研究的動力。

(圖為於 2019 Society of Neuroscience 張貼論文海報)



職將為期一年半的進修成果撰寫為原創學術論文，投稿於國際神經科學期刊 Blood Advance，已通過論文審查獲得刊登接受函，論文電子全文即將發表。

(3) 心得

職此次進修的成行，感謝臺北榮民總醫院麻醉部以及院方的支持，以及陽明大學李怡萱教授三年前的牽線，得以認識管家義教授，當時短期進修的經驗，更促成這次長期的再次進修與合作能順利推進，也迅速得到校方的同意與邀請函。後續在簽證的申請更是得到校方的大力協助，因此我能夠從容不迫地準備出國事宜並且兼顧忙碌的臨床工作，使得這趟進修有個順利的開端。

維吉尼亞州是美國政治歷史發展的中心，維吉尼亞大學校園被列入聯合國教育科學文化組織世界遺產名單校園。在這樣擁有豐富人文以及歷史感的环境學習和做研究，實在是難得的體驗。維吉尼亞大學所在的夏洛茨維爾為人口僅四萬的小城市，其居民多數任職於維吉尼亞大學及其附屬醫院，由此可見學校與地方發展相當密不可分。職於 2018 年秋天抵達，適逢第九任校長 James E. Ryan 的到任，新校長十分注重學校與社區的互動，自到任第一年開始舉辦 5 公里社區路跑，除了促進社區的健康，也落實與社區的連結。

在醫學研究上，維吉尼亞大學醫學院雖然位處校園東區一隅，緊鄰附設醫院旁有醫學研究大樓六棟 (Medical Research Building 1~6)，另外尚有數條街之外的 Fontaine Research Park，職所進修的神經科學部即位於 MR-4。醫學院每週的學術教學活動豐富，除了部門內定期的 seminar，臨床神經科的 grand run、graduate school program 亦常邀請美國國內知名學者的講座，經常是座無虛席，與會者不論是學生、研究員、或是教授，都踴躍地針對演講內容或是自身研究遇上的狀況提出問題，而講者往往知無不言，遇到目前尚未有結論的問題也很真誠地提出自己的經驗，比較近似於「經驗交流」而非單方向的你問我答，整個過程相當紮實具有啟發性，結束時都能帶著滿滿的收穫回到自己的研究室。維吉尼亞大學與同位屬維吉尼亞中區鄰近的維吉尼亞聯邦大學 (Virginia Commonwealth University)、維吉尼亞理工學院暨州立大學 (Virginia Polytechnic Institute and State University)、詹姆斯麥迪遜大學 (James Madison University)、以及威

廉與瑪麗學院 (College of William & Mary in Virginia) 有密切的往來，除了研究計劃的合作，每年三月至四月間會舉辦維吉尼亞中區神經科學會議 (CVCSN)，共享學術資源並且交流研究成果，是州內的學術盛事。這讓我想到，台灣的年會易淪於大拜拜形式，也連帶影響醫師們與會的意願。除了聽演講般吸收最新的知識技能，若能將去「開會」的心態轉換成「分享」，勇敢地提問互相討論，這樣比較有參與感，收穫也能更豐富，才是個真正的繼續教育活動。

出國進修除了學習專業知識能力之外，更多的是在全然不同的環境中生活，常常會與過往在國內累積的經驗相互比較。在國外研究資源豐富，管教授的實驗室能夠擁有獨立於共同資源中心的動物手術室、正立/倒立雷射共軛焦顯微鏡、即時活體動物影像攝影，這些都是在國內難以望其項背的硬體設備；過往覺得知名科學期刊上的論文作者相當遙遠，但在這一年半中，他們也許就是擦肩而過或是一同把酒言歡的同事。親眼見到在進度報告會議中所展現的數據、討論的問題，轉變為高 impact factor 期刊中所刊登的論文的過程，這種感覺很神奇但又很真實，而且很可能自己就參與其中。然而外國的月亮並不總是比較圓，在宛如聯合國般的學術研究單位，如何克服語言的隔閡以開放的心胸去學習、去解決所遇到的任何問題，這些都將化為日後研究的能力與動力。十分感謝和珍惜行政院、臺北榮民總醫院以及麻醉部給予這個機會，前往孕育 Cell、Nature、或 Science 等級的研究機構去體驗以及學習，希冀在未來能持續這段時間的研究，與所認識的學者保持合作的關係，將所學貢獻於本院，提升本院的研究能量以及競爭力。

(4) 建議事項

1. 鼓勵跨領域研究

基礎研究是臨床進展的基石，然基礎研究的結果要能應用在臨床治療往往還有一段落差，這個落差需要熟悉基礎研究的臨床醫師來彌補。國內臨床醫師的工時相當長，要兼顧臨床工作與研究往往是蠟燭兩頭燒，多半就近投入臨床病人研

究，願意投入基礎研究的臨床醫師相對比較少。透過行政院的經費補助，能有機會到國外去吸收新知並且專心投入一個研究主題，是相當難能可貴的經驗。但是要能將這樣的成效延續在歸國後，則需要現行體制上給予臨床醫師更多誘因與鼓勵。

2. 創造英語簡報的環境

雖然國人從小就學習英語，能夠公費進修也具有相當的外語能力，但是生活英語與簡報英語是截然不同的。簡報英語能展現出思考的脈絡與邏輯，用詞需精準，尤其在發問與回答的時候，更是考驗報告者的能力。一個好的研究主題和結果，若無法清楚地表達，也會失去展現的舞台，因此除了鼓勵撰寫論文投稿之外，也須在平時就有練習英語簡報的機會，以期在國際場合有良好的表達，增加能見度以及促成國際交流與合作的機會。

3. 增加進修時間

初到進修所在地時，第一個月在找住處、辦保險、開戶、考駕照，安頓好基本生活加上教育訓練中一轉眼就過完了。一個研究主題從發想到執行至初步的成果，可能需要三至五年。所幸在這次的進修，除了先前有合作的經驗，在出發前也有數個月的討論，加入一個已經成形的團隊幫助我很快地進入狀況，兩年的時間對於研究的完成度會比較恰當的。

A murine photothrombotic stroke model with an increased fibrin content and improved responses to tPA-lytic treatment

Yu-Yo Sun,^{1,4*} Yi-Min Kuo,^{1,2*} Hong-Ru Chen,¹ Jonah C. Short-Miller,¹ Marchelle R. Smucker,¹ and Chia-Yi Kuan¹

¹Department of Neuroscience, Center for Brain Immunology and Glia, University of Virginia School of Medicine, Charlottesville, VA; and ²Department of Anesthesiology, Taipei Veterans General Hospital and National Yang-Ming University School of Medicine, Taipei, Taiwan

Key Points

- Adding low-dose thrombin into photothrombosis elevates the fibrin content in blood clots.
- This modified photothrombosis model has greatly improved responses to tPA-lytic treatment.

The Rose Bengal (RB) dye-based photothrombotic stroke (PTS) model has many methodological advantages including consistent location and size of infarct, low mortality, and relatively simple surgical procedures. However, the standard PTS has the caveat of poor responses to tissue-type plasminogen activator (tPA)-mediated lytic treatment, likely as a result of the platelet-rich, fibrin-poor content of the blood clots. Here we tested whether the admixture of thrombin (80 U/kg) and RB dye (50 mg/kg) in the proximal middle cerebral artery (MCA)-targeted PTS will modify the clot composition and elevate the responsiveness to tPA-lytic treatment (Alteplase, 10 mg/kg). Indeed, intravital imaging, immunostaining, and immunoblot analyses showed less-compacted platelet aggregates with a higher fibrin content in the modified thrombin (T) plus RB photothrombotic stroke (T+RB-PTS) model compared with the standard RB-PTS-induced clots. Both RB-PTS and T+RB-PTS showed steady recovery of cerebral blood flow (CBF) in the ischemic border from 1 day after infarction, but without recanalization of the proximal MCA branch. Intravital imaging showed high potency of restoring the blood flow by tPA after single vessel-targeted T+RB-PTS. Further, although intravenous tPA failed to restore CBF or attenuate infarction in RB-PTS, it conferred 25% recovery of CBF and 55% reduction of the infarct size in T+RB-PTS ($P < .05$) if tPA was administered within 2 hours postphotoactivation. These results suggest that T+RB-PTS produces mixed platelet-fibrin clots closer to the clinical thrombus composition and enhanced the sensitivity to tPA-lytic treatment. As such, the modified photothrombosis may be a useful tool to develop more effective thrombolytic therapies of cerebral ischemia.

Introduction

The search for acute stroke therapies requires multiple preclinical models to address different aspects of the pathological mechanisms. The photodynamic dye (eg, Rose Bengal [RB])-based photothrombotic stroke (PTS) model has many strengths, including consistent location and size of infarct, relatively simple surgical procedures, and a low mortality rate of animals.¹⁻⁴ The introduction of middle cerebral artery (MCA)-targeted photoactivation (as opposed to aiming the laser beam at a large brain area) further widened the ischemic penumbra to study perinfarct neovascularization.⁵ Yet RB-based photothrombosis largely remains a model of permanent ischemia, as it is resistant to the tissue-type plasminogen activator (tPA)-lytic treatment.^{3,4,6} The poor responses to tPA have prevented the application of RB photothrombosis for studying the pathology of transient ischemia and the search for better thrombolytic therapies.

The root cause of RB photothrombosis' poor responses to tPA-lytic therapy may be its low fibrin content in compacted platelet aggregates as the blood clots.² As the recent advances of endovascular stroke therapies have enabled the histological analysis of acute clinical thrombi, it became clear that the

Submitted 1 August 2019; accepted 24 February 2020; published online 30 March 2020. DOI 10.1182/bloodadvances.2019000782.

*Y.-Y.S. and Y.-M.K. contributed equally to this study.

The full-text version of this article contains a data supplement.
© 2020 by The American Society of Hematology