

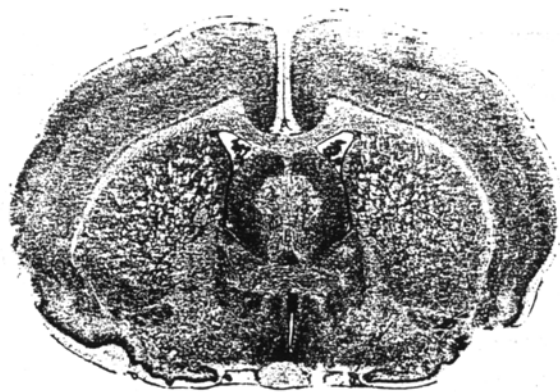
神經科學有個很重要的假設：「人和動物的感覺、運動、本能及心智行為，均源於神經系統的功能。」在這個前題下，神經科學的研究正不斷地發掘腦中各個部位的功能，以及各種行為及心智活動在腦裡的操作機制，本篇文章的目的在簡單說明：研究神經系統中網路功能的方法。

曾經看過或吃過魚腦、雞腦的人，也許會驚訝這麼小一塊軟趴趴、豆腐樣的東西，如何能擔負得起前述所付託的重大使命？反過來說，看過腦組織切片(見圖一)後，尤其是看過數十、數百張系列性的腦組織切片，另一個問題也常常會發生：這麼複雜的構造，如何去研究？

基本法則

我們先看如何研究腦中各個部位的功能。如果腦中的一小部分構造 A 與甲功能有關係，則

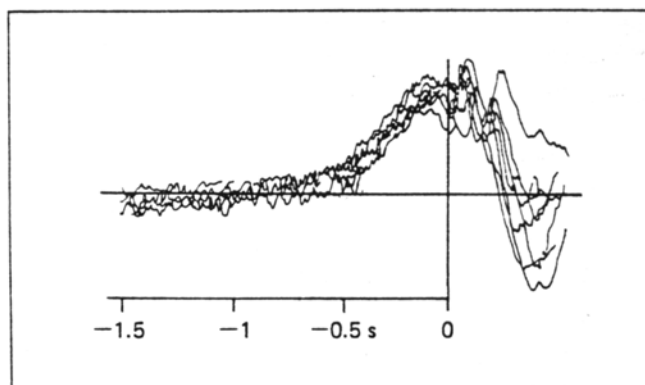
1. 當 A 部分被移去時，甲功能受到影響；
2. 當身體執行甲功能時，A 部分的神經細胞有適時適度的變化；
3. 與 A 部分有連結的其他腦內區域(如 B、C··)也可能與甲功能有關；
4. 適當地刺激 A 或 B、C 等區域時，會引起甲功能的表現。



圖一：大白鼠腦的一張切片。每個小黑點代表一個細胞。估計每平方毫米的大腦皮層中有6~12萬個神經細胞。如果以人腦中平均有25萬平方毫米表面積的大腦皮層來估計，人的大腦皮層即有 10^{10} 以上的神經細胞。

古典的方法

最早被廣泛試驗的是上列法則中1和4的毀除與刺激的實驗。例如十九世紀法國醫生布羅卡(Broca)綜合腦傷的病例，在大腦前葉的下側方找到語言區域 Broca's area。又如日俄戰爭時使用了子彈速度快、穿透力強的槍械，造成許多一小塊腦被破壞的病人。綜合一些視覺損害的病例，發現了視覺大腦皮層以及視覺大腦皮層內網膜投射區分布

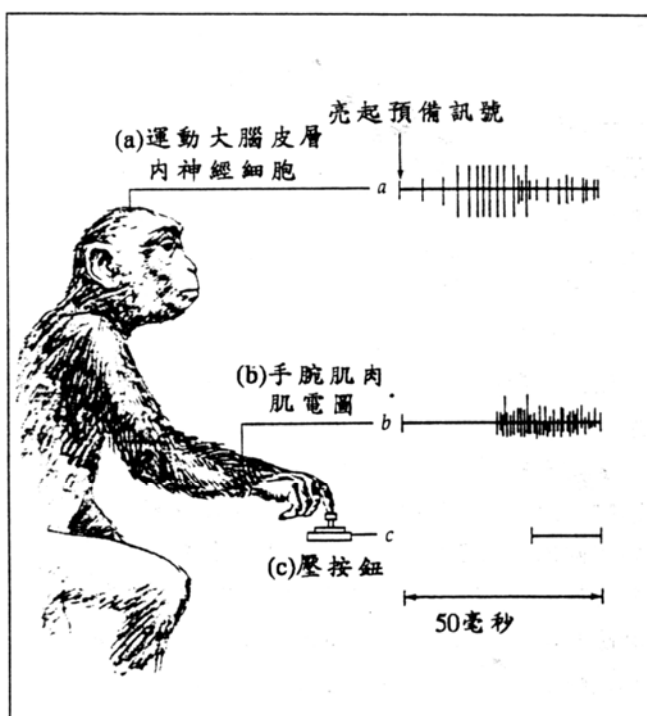


圖二：在運動大腦皮層上方記錄到的誘發電位，領先肌肉的收縮數百毫秒(時間為零時肌肉收縮)。

的情形。

運用刺激的方法研究的例子如加拿大外科醫生 Penfield，在進行腦手術時以電刺激病人大腦中央溝前後，證實如同猴子，人腦中央溝前方為運動大腦皮層，後方為感覺大腦皮層。

隨著電生理方法的發展(請參見《科學月刊》21 卷 12 期 922 頁(電生理與神經科學)-文)，記錄腦中電訊號變化的方法被廣泛應用在腦功能的研究上。例如「誘發電位」(evoked potential)記錄一群神經細胞的反應;「單一細胞紀錄法」記錄一個神經細胞的反應。圖二和圖三分別為誘發電位與單一細胞紀錄方法應用的例子。無論由群體反應或一個細胞的反應，都可以看出在主動的動作之前，運動大腦皮層的細胞先活躍起來，然後才見到肌肉的運動;支持運動大腦皮層控制肌肉的運動神經元這樣階層式控制的假說。



圖三：在猴子運動大腦皮層中以微電極記錄幾個神經細胞放電的情形。當預備訊號（如閃光）亮起來時，猴子必須主動壓按鈕才能獲得獎賞。紀錄圖顯示在手臂肌肉運動（肌電圖）發生之前，運動大腦皮層神經細胞的動作電位的頻率即已增加。

電生理的紀錄方法在時間軸上的解析力極強，但是在空間上常常只能作一點或少數點的紀錄。在 1970 年代開始有人研究將隨著膜電壓變化顏色的染料打入細胞，用光學方法來快速測量一塊平面上極多點腦組織電訊號的變化。可惜這種方法只適合透明的或者表面的組織，應用受到極大的限制。

生物醫學影像法

近代「生物醫學影像方法」突飛猛進，已經可記錄各種行為及心智活動時，實驗動物或人的腦中各部位的血流量、代謝速率、特定基因表現量及傳遞物質的作用能力。代表性的方法有:2-DG、基因表現的組織化學染色、核磁共振顯像、PET 等四種，分別作簡單的介紹。

葡萄糖代謝速率

2-DG 方法的原理是利用葡萄糖的類似分子----2-去氧葡萄糖（2-deoxyglucose；2-DG）----騙過細胞膜上葡萄糖運送分子，進入神經細胞，讓醣代謝酵素加上第一個磷

酸根後才被細胞認出是冒牌貨，無法繼續代謝；但又因為已經磷酸化了，無法吐出細胞外，因而在細胞內累積起來。累積的量與神經細胞使用葡萄糖的量有成正比的關係；也就是說，愈活躍的神經細胞在同一段時間中會累積愈多的 2-DG。

如果在特定的功能表現前，我們給予實驗動物一定量、帶放射性同位素的 2-DG，與此功能有關的腦的區域在功能表現時，便會吃進較多的放射性-DG 做腦切片及放射線的「自動曝光顯像」(autoradiography)，即可找出腦中與此特定功能有關的所有區域。

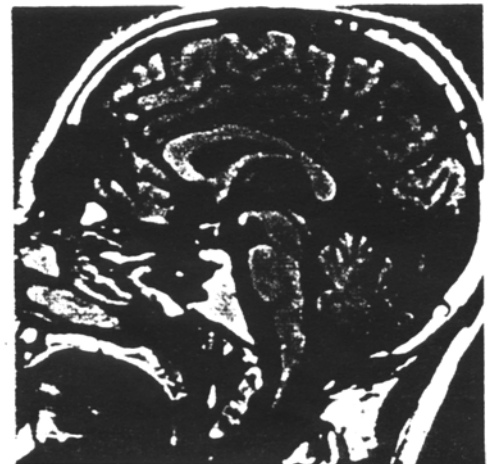
基因表現

細胞活躍時，常常有許多基因伴隨著活躍起來，產生一些基因產物。可以利用組織化學的方法染這些基因產生的 mRNA 或蛋白質產物，來尋找在特定功能變化時活躍起來的神經細胞。常用的一種基因為 c-fos。fos 是一種致癌基因(oncogene)，c-fos 是其在正常細胞中的相似基因(Proto-oncogene)。當細胞活性高時 c-fos 基因也活躍起來，fos 基因產物出現在細胞核中，因此可能與調控其他基因有關。在特定功能表現後，可以用免疫化學方法染腦中上 fos 基因產物來找出與此功能有關的神經細胞。

核磁共振影像

2-DG 及 c-fos 方法都只能用在實驗動物;核磁共振影像及 PET 的方法則可以用在人體實驗。核磁共振影像(magnetic resonance imaging, MRI)的方法是修改了的核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)。

NMR 利用強力磁場使質子數為奇數的原子(例如氫原子)的原子核產生特定的排列，再以瞬間變化的電磁波去激發扭動這些原子核，當瞬間電磁波停止時，這些原子核又扭轉回到原來的排列方向，並釋放出特定頻率的電磁波。利用適當的偵測器可以測出這些釋放出來的電磁波量，因而可以計算在小量樣品中、在特定環境中，以特定化學鍵結合的某一種原子的數量。而 MRI 則輔助以變化角度、強弱的磁場，抽取腦中許多點中特定物質的量的資料，以影像方法呈現出來。例如圖四中的頭部切面，因為腦中各個部位的水量不同，呈現不同的灰度，因此可以看到腦中各個部位。



圖四：MRI影像的一例

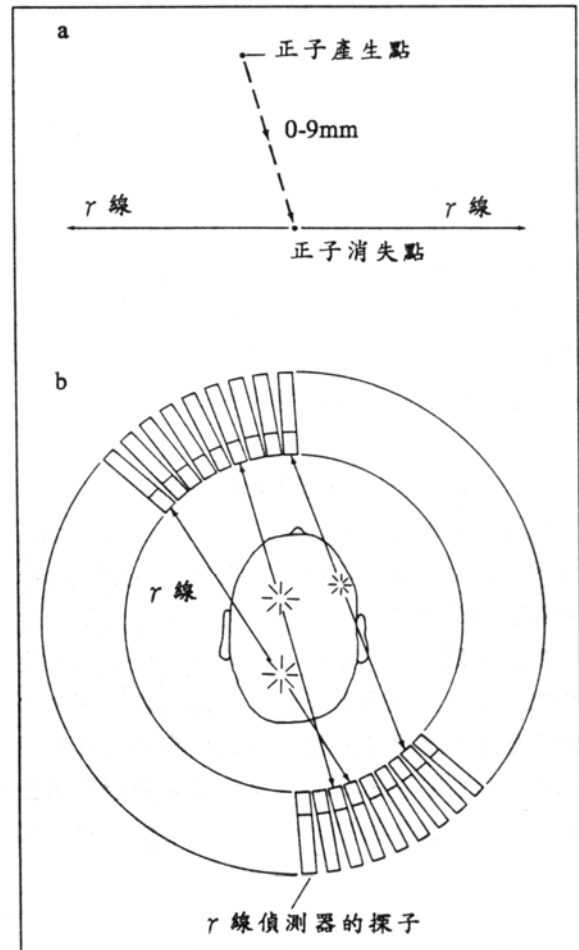
上述例子顯示核磁共振影像法，在無傷害性的狀況下可透視頭骨下的軟組織。理論上，如果改變測量的原子種類可以觀察不同物質來研究不同的功能。例如如果測量磷，可偵測腦中ATP(腺甘三磷酸)等重要代謝物質的分布和變化。

正子放射圖像儀

MRI 現在已是醫院常用的診斷工具，一般用在觀察軟組織的形態變化。利用偵測正子的正子放射圖像儀(Positron emission tomography · PET)，則較能針對腦的生理和生化的功能做探測。碳-11、氮-13 或氧-15 是較常使用、能放射正子的同位素。將含有這些同位素的化學分子注射或經由呼吸(例如極少量的一氧化碳-11)進入人體後，這些同位素不斷衰減，放出的正子立刻與電子結合消滅，轉變成兩個下線的光子。更重要的是這兩個光子彼此以 180 度的反方向分離(見圖五 a)。因此在完全環繞頭部的「金鐘罩」偵測器上，在相對位置的探子上會同時偵測到一個光子，由此來推算正子釋放的位置(見圖五 b)。由單位時間內腦內各處正子釋放的量，可測量這些地方有多少含同位素的化學分子。如果化學分子是一氧化碳，因為一氧化碳與血紅素緊密結合的關係，可以推算腦內特定區域中的血流量。如果化學分子是神經傳遞素的類似物，則可以測出腦中特定傳遞素的功能表現(見圖六)。

神經解剖方法

以上介紹了一些測量腦內各區域在特定功能表現時的電、血流、代謝和基因表現變化的方法。這些是基本法則中第二點的方法。基本法則中的第三點：腦內特定構造的連結的問題，是神經解剖學上的核心問題之一。基本上腦的構造雖然複雜，卻是極有組織性。一群神經細胞與其他部分的神經細胞的連結非常有秩序。找出這些連結的關係，時常幫助解釋了不少功能上的問題。在豆腐狀的腦中尋找出各部位間連結的關係，通常需要特殊的方法。下面舉出HRP(horseradish peroxidase)及病毒染色兩種方法來說明。



圖五：PET 的原理——正子釋放出來後與電子結合轉變成兩個反向前進的 γ 線光子(a)；以 γ 線偵測器環繞頭部，從同時偵測到的光子來推算放出正子的位置(b)。



圖六：PET 的影像——以含碳-11 的多巴胺類似物注入血流後，做腦部的正子放射圖像，可以看到多巴胺類似物在基底核累積得最多。

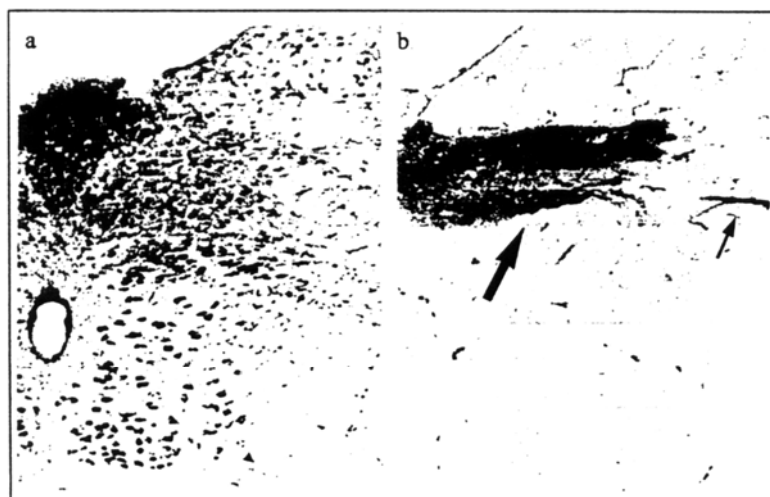
HRP 方法

神經細胞的細胞本體不大，但是軸突卻可能非常的長，因此軸突運輸的功能十分發達。研究者利用軸突運輸的原理，發明出一些追蹤神經細胞連結的方法。這些方法的基本原理是將染料等標識物放在神經細胞旁，讓神經細胞吞入這些標識物，這些標識物就會藉著軸突運輸被帶到神經細胞的各個部分。研究者在腦切片中觀察標識物的分布即可由細胞本體找到神經末梢，或由神經末梢尋到細胞本體所在的位置。這些標識物有非常多種，HRP 是其中典型的例子。

山葵(horseradish)是做芥末(wasabi)的原料。HRP 是這種植物裡抽取出來的過氧化氫分解酶(peroxidase)，是分子量數萬的蛋白質分子。將非常微量的 HRP 分子放在腦中特定的構造中，一部分的 HRP 便會被這構造內的神經末梢細胞吞噬進入細胞，再經由軸突運輸集中在細胞本體內，可以將有 HRP 的細胞用組織化學染色呈現出來(見圖七)。

病毒方法

HRP 通常只能在同一個神經細胞中運送。即使極少的 HRP 分子躍過了突觸進入了下一個神經細胞，因為量太少也很難看得清楚。利用這一類的方法只能像拼圖遊戲一樣，將網路一步步拼出來。如果有方法能夠經由網路的突觸連結，一個細胞接著下一個細胞地把整個網路都染出來那有多好!濾過性病毒法可能有機會達到這樣的理想。



圖七：HRP 方法的一例——a 圖與圖一類似的染色方法，顯示延腦正中上方的一小部分。每一個黑點為一個神經細胞。b 圖為 HRP 注射到迷走神經中被神經纖維帶入延腦，除了顯示迷走神經（小箭頭）之外，更顯示迷走神經細胞本體集中的位置（大箭頭）。

病毒法的原理是將微量的在神經組織內生長的濾過性病毒，例如泡疹病毒，注射到神經中，這些濾過性病毒不但會遍布在這些神經纖維自己的細胞中，而且會經過突觸進入上一層或更上一層的神經細胞。雖然能過得去的是極少的數量，但是只要過去了一個病毒，便會經由繁殖增生而增加到能被偵測出來的數量，達到染出與當初注射的神經有關的腦中所有部位的目的。這種方法的專一性及安全性仍有待加強。

模擬的網路

經過四個原則的探討，我們可以確定腦中某一個構造 A 與功能甲關係的重要程度，也可以了解執行甲功能可能的神經網路。但是除非我們能用人工材料重建網路，並產生

甲功能，我們仍然不能說對腦中的這一小部分有了完全的了解。顯然地，要達到這樣的目標可說是遙遙無期。但是我們可以做紙上的模擬，來測試我們的網路模型。

在這種「神經網路」裡可以使用理想化的神經細胞，賦予突觸連結，以模擬的狀況來測試是否能產生應有的輸出。也可以進行一些模擬的紙上實驗，來找出值得進行的研究方向。不僅於此，類神經網路的研究因為在產業界應用的潛力非常的大，已經是重要的一門顯學。

研究方法仍有待突破

回到我們對神經系統研究方法的討論。神經系統內的訊號傳遞是以細胞為單元，每個細胞產生電訊號的頻率可能高達每秒數百次。經由一連串有關的神經細胞連成的網路達成特定的功能。由此看來，理想的研究方法應該在千分之一秒的瞬間中有捕捉到整個網路上每一個細胞變化的能力。

以上我們討論的生理和解剖的方法，有的雖然在空間中有細胞層次的解析力，但可能只能看幾點(電生理)，或者只能看時間上的一點(c-fos 及神經解剖方法);有的雖然能重複地做整體的觀察，但空間和時間軸上的解析力卻又太差(如 MRI、PET 等)。因此可以說理想的方法尚未誕生。

依照現況來看，我們可以用幾種方法拼湊·起來，詳細地研究動物特定行為的神經網路到能以模擬測試比較的地步。這個目標在少數簡單的無脊椎動物神經網路已經接近達成，並且進而探討引起行為變化的分子生物機制。但是對於神經系統複雜的動物這個工作可以說才剛開始，未知的部分仍遠大於已知的部分。可以·想見系統神經科學的知識將以穩定緩慢的步子增加。如何在細胞、分子及系統的層次研究人類的心智活動進而達到真正的了解，仍有待方法上的突破。