

出國報告(出國類別：全時進修博士)

絲胺酸蛋白酶 matriptase 活性失控促進惡性淋巴癌增生與抗藥性機轉研究

服務機關：國防醫學院

姓名職稱：邱奕霖 少校教師

派赴國家：美國

出國期間：103 年 7 月 1 日至 107 年 6 月 30 日

報告日期：107 年 8 月 1 日

摘要

Matriptase 為一種二型絲胺酸蛋白酶，已知於表皮組織中大量表達，並與維持表皮生長分化、毛囊功能有重要生理意義。Matriptase 一般以酶原的型態表達於細胞表面，當受到如酸性、缺氧等外來刺激影響時，matriptase 會經由自我活化(Auto-activation)的方式活化，進而活化諸如 proHGF、uPA、PAR2、CDCP1 等下游受質。一般在表皮細胞中，matriptase 與其抑制蛋白 HAI-1 被大量共同表達於細胞表面，因此其活性會在自我活化後的短時間內被 HAI-1 阻斷形成複合物，使得細胞得以嚴格控制 matriptase 活性作用於局部位點。

先前的動物實驗指出，當細胞中 matriptase 與 HAI-1 的表達失衡時，matriptase 的活性會失去控制，進而造成表皮細胞增生並形成腫瘤。於高侵蝕性淋巴癌細胞中，matriptase 普遍被大量表達，而 HAI-1 則無法測得，而此失控之活性亦已被證實與淋巴癌增生有關。然而，HAI-1 的表達對於 matriptase 在細胞分泌路徑中誘發自我活化所產生的毒性有抑制效果，顯示淋巴癌細胞中可能有其他抑制蛋白取代了 HAI-1 於細胞中抑制 matriptase 自我活化的角色。

此次出國進修研究內容，主要在於研究於淋巴癌中何種抑制蛋白協助細胞利用 matriptase 的活性幫助自己增生與增加抗藥性之相關的機轉。我的研究發現，與 HAI-1 結構、功能相似的另一種抑制蛋白 HAI-2，在淋巴癌細胞中普遍有大量表達的現象。而 HAI-2 主要表達於細胞質，這點與 HAI-1 表達在細胞表面截然不同，此特點使得 HAI-2 可以保護細胞免於受到 matriptase 在細胞質活化產生之毒性，使得細胞得以不斷產生 matriptase，又因 HAI-2 無法在 matriptase 在細胞表面活化時即時調控其活性，使得此抑制蛋白反而具有促進 matriptase 活性增加的角色，此作用亦已證實與淋巴癌細胞躲避標靶藥物的作用有關。在進一步的研究中，我們發現使用抗 matriptase 單株抗體具有抑制 matriptase 活化的作用，而此作用亦可減少淋巴癌細胞對標靶藥物之抗藥性，顯示此研究深具臨床應用之價值。

目 次

摘 要.....	1
目 次.....	2
本 文.....	3
一、目的	3
二、過程.....	4
三、心得及建議	6

目的

源起：

經歷了約八年的部隊工作，在民國 101 年時有幸調回國防醫學院生化學科擔任講師，教導大學部學生有機化學與生物化學的課程。自部隊一回到學校，自然是一切從頭，不僅在教學工作的準備上是焦頭爛額，研究工作更是因沒有明確的方向而手足無措。時任生化學科主任的黃世明教授為培養下一代師資，讓我幸運獲得全時出國進修的機會，在經歷多次托福與 GRE 的艱苦奮戰後達到美國博士班的錄取分數，並在王正康教授的引薦下，前往位於美國首都華盛頓哥倫比亞特區的喬治城(Georgetown)大學攻讀該校藝術與科學研究所(Graduate School of Art and Science)所屬腫瘤生物學程(Tumor biology program)博士學位。

個人專長：

癌症生化學，癌症藥理學，腫瘤分子訊息與傳遞，生物資訊學及臨床應用，蛋白酶學

進修目的：

在擔任講師的兩年中，受查岱龍教授啟發，深感癌症的發生與治療仍是現今社會所無法克服的一大難題。因此在進入以討論與研究癌症為主的腫瘤生物學程攻讀博士班後，除了精進個人在研究與教學工作上的能力，學習並在回國後建立一系列與癌症發生及治療有關的課程亦為此次進修的主要目的。

過程

在美國攻讀博士學位，第一年以修習學分為主，實驗室輪調為輔，課程部分包括了生物化學、分子生物學、分子訊息路徑與調節、癌症藥理學、研究倫理討論、研究與應用統計學、生物資訊、論文寫作基礎指導、論文討論等等。

來到美國第一堂課即是生物化學，雖然已有兩年教導生物化學的經驗，但是在首次上課時感到十分矛盾，所謂的矛盾是指雖能理解上課的內容，卻無法理解教授的講解，此實為非母語人士必定遭遇的難題。此外也首次領會了美國大學課堂發言之踴躍，美國學生對於課堂教授的知識著重於理解而非死背，因此會透過換句話說的方式向教授詢問他們的理解是否正確。文化的衝擊不僅在課堂，也在考試中多有領悟，比如在台灣學生習慣以條列式、圖像化的方式回答問答題，我在初次考試時以類似的方式回答了題目，卻得到教授的一個問號與不予計分，後來在逐漸打聽下，才了解美國的教育希望學生能由淺至深敘述答案，代表你能理解並有系統地回答問題，條列式、背誦式的回答會讓美國教授無法理解你寫出這麼一堆名詞的用意為何。在試著以理論敘述回答問題時又遇到了另一個難題，亦即先天英文表達能力的弱勢，造成教授只能部分的理解答案，因此與母語使用者相比，考試的結果往往是在九成會的前提下只拿到七成的成績，更不用說原本就非在行的流行病學與統計，這也讓我在攻讀學分時格外辛苦。隨著課程的加重，語文的表達與理論的敘述也逐漸成熟，因此得以在第一年結束時順利通過博士資格考而獲得博士候選人資格。

第二年開始進入實驗室工作，對於剩下三年要畢業，最初其實十分迷惘而焦慮，在尚未掌握實驗室方向的情況下，也只能有什麼學什麼；一開始題目只有兩個名詞：matriptase 與淋巴癌，實驗技術學到的只有兩招：做西方墨點法與測蛋白酶活性。由於本身也非手巧或有特別天份之人，前半年做的實驗數據慘不忍睹，但也在其中逐漸摸索出一個特定的自然現象：我們實驗室本來假設大量表達抑制蛋白時會造成其目標蛋白酶活性的減少，卻在活性測定下觀察到非預期的現象，亦即在大量表達抑制蛋白 HAI-2 時，所測得 matriptase 活性仍然非常高，這與一般論述蛋白酶活性與抑制蛋白時有著顯著的衝突。在重覆數次實驗均有類似的現象後，開始形成假設：大量表達此抑制蛋白無法顯著抑制其目標蛋白酶活性。有了假設，許多實驗設計因此成形，例如若我們操控抑制蛋白 HAI-1 與 HAI-2 表達量由少至多，對蛋白酶活

性有何影響、抑制蛋白是否與蛋白酶的活化有關、抑制蛋白與蛋白酶在細胞結構上是否處於相同的位置等等，因此由一個假設衍生出多個假設，再由多個假設的驗證中陸續得到新的發現與新的假設，為了證實新的假設，又必須建立新的實驗技術。因此，在第二年的實驗室工作中，雖然花了一整年只做兩種實驗，卻對於實驗的設計、現象的觀察、實驗結果的判讀與統計計算有了深刻的認知理解與大幅的進步，也在不斷重覆的過程中，學到如何精簡實驗步驟、增加實驗可重覆性、實驗結果量化與統計分析等等。

第三年開始時，對於第二年中產生的假設已有相當程度的驗證，因此我開始引入與癌症臨床治療相關的實驗，亦即了解蛋白酶活性對於標靶藥物抗藥性有無影響、影響的機制為何、有無方法可透過抑制蛋白酶活性而減少腫瘤細胞對標靶藥物的抗藥性等等。幸運的是，我所處的實驗室對該蛋白酶有著極為深厚的研究基礎與理論，因此在形成任何假設時，都能迅速的排除無關或較難達成的實驗方向，因此在第三年中完成了多個實驗數據，並搭配以生物資訊的優勢，發現臨床上與實驗結果相呼應的大量資料，大幅強化研究結果在臨床應用上的可能性，最終得以在第四年前半年結束時累積兩篇文章的實驗數據，同時也有多個方向可帶回國內繼續進行。

雖然研究十分順利，但博士論文的撰寫與口試仍然是整個博士學程中極大的關卡，而我們又有著四年內畢業的壓力，因此在第四年後半開始時，只能放下所有進行中的實驗，全心全力投入論文的撰寫與口試的準備，也感謝博士班導師林陳鏞教授與 Dr. Michael Johnson 的全力支持，使得我得以在四年的期限中完成兩篇論文的内容並順利通過口試而帶著畢業證書回國。

心得及建議事項

在整個攻讀博士學位的過程中，內心一直對於” 研究基礎” 與” 追求創新” 兩者的平衡是十分掙扎的，相信這其實也是多數人在選擇學校與實驗室時遇到的難題：究竟我該選擇熱門的方向，還是穩定的基礎？的確，熱門的方向讓將來的計畫有較高的機率通過，也能為國內注入嶄新技術，但同時也意味著世界高度的競爭與國內科研環境先天限制的難解。

此次出國，我選擇了穩扎穩打的基礎研究，卻在研究的過程中，有機會逐漸的將基礎研究與熱門方向結合，得以在握有該基礎理論的優勢下，探索應用在臨床的可能性。也因為扎實的研究訓練，讓我體會了科學文章的三元素：假設、驗證、呈現；假設不在深，在於能否清楚論述因果與邏輯；驗證不在繁，在於能否明確證明假設的正確；呈現不在多，在於能否簡單說明驗證的真切。三元素組成一小段，多個小段組成實驗結果(Result)，實驗結果即為一篇文章的主要架構，背景介紹(Introduction)架構舞臺，討論(Discussion)讓我們無限延伸。

至於基礎研究的熱門應用，在建立了第一篇文章的架構上，我在第二篇文章延伸了蛋白酶之於癌細胞生長與抗藥性；在其他種類癌症的臨床資料中挖掘到相似的結果；原本用作西方墨點法的單株抗體竟有潛力作為臨床治療的選項；也發現了目標蛋白酶在腫瘤微環境中可能造成的促癌機轉，這些應用均是在建立了深厚的基礎理論下所衍生，惟現行科研環境是重應用而輕基礎，卻未發覺多數應用仍是依循前三十年基礎建立的老本，當世代逐漸過渡至純應用世代，或將因為技術的失傳而不再有人能以扎實的基礎，提供可靠的理論供臨床應用。

除了外在可見的學分、學位、論文，這四年也帶給我內在看不見的變化。33 個學分讓我對各種癌症主題諸如增生、凋亡、侵蝕轉移、自噬、血管新生、週期調控有初步掌握，在觀察與假設時能立即調閱相關文獻；難熬的角色扮演論文討論課程讓我學著從編輯、作者、評

審三方觀點審視一篇發表的文章，因此能迅速發覺文章的優點、盲點與應對評審的方法；論文的撰寫讓我學會統計的用法、實驗的設計參考與對理論的敘述架構。最重要的，應該還是實驗技術的磨練，技術三重覆、生物三重覆以致於下一個假設驗證是否吻合，實驗技術不確實，只會讓人永遠無法建立最初的假設、進而成立連鎖的結果。此觀念亦將在回國後主帶的生化實驗課程中大幅強化，以改進目前學生對於實驗的輕忽與怠慢。

相較於研究所同儕均是二十出頭的年輕人，三十多歲才幸運獲得此出國進修博士機會，難免在學習上力有未逮，也與同學少有交集，但是在研究的方向與實驗的進度與上卻也多了份穩扎穩打。在部隊的經歷讓我了解出國進修機會得來之不易，因此我們更加希望將美國所學習的課程帶回充實學院教學能量，在此衷心期盼學校能積極規畫新進教師出國進修，或徵尋身處各國軍醫院有志出國進修同仁之意願，雖對現行教學任務有一定影響，但長遠看來定是利大於弊。

關於此次出國進修之建議事項，首先對於軍醫局、國防醫學院乃至於生化所的多位長官及同仁給予我極大的幫助，在此表達最誠摯的感謝。惟有一點想透過此機會建議：於出國進修期間，在進行研究與修課的過程中其實並不容易隨時停下，因此職於四年中並未在因公派駐美國期間返國，此事卻造成本人戶籍被撤銷。職在收到戶籍撤銷公文時有特別向戶政事務所反映，得知此事乃由移民署主管，而移民署其實僅需機關單位以函告知此戶籍被撤銷之國民是因公派駐國外即可取消戶籍之撤銷，當時雖透過生化所及國防醫學院向上反映，但並未得到任何回應，只能讓戶籍被撤銷而束手無策。

對此問題先前得知的訊息是一般必須在屆滿兩年時返國以維持戶籍，然而此事在實行上是有相當難度的。首先，就研究進度而言，在進行各項實驗時，細胞株的培養、實驗方法的

建立及實驗結果的重覆都必須在適當的條件下進行，若為返國維持戶籍而停止所有實驗，有極大可能造成細胞株再建立不易或結果重覆時出現極大誤差，這些結果都將嚴重影響研究進展與僅僅四年的畢業進度。以時間比喻，停止兩週至一個月的實驗，可能需要再白花三個月至六個月的時間去回復停止實驗前的研究進度。另外，以美國博士學程而言，第二年的結束至第三年的開始通常是要提出 Thesis proposal 與進行博士資格考的重要時期，應該是不太有可能放下一切為維持戶籍返國。就金錢開銷而言，在美國租房一個月的開銷至少一千美金以上，返國期間並不會因沒有居住而不用花這筆錢，同時來回機票也需要自行吸收，回國期間又無法繼續任何研究只能每日空等。相對而言若上級單位能協助出國攻讀博士學位同仁發函告知移民署因公出國之名冊，將能大幅減少同仁們在出國期間及回國後因戶籍撤銷而造成的各種麻煩與問題，進修同仁亦能更加專注於研究的進展，可謂利遠大於弊。

最後在此感謝出國前在各方面協助我的司徒惠康院長、黃世明教授、王正康教授、王松齡教授、查岱龍教授、楊哲彥教授、林慧觀教授、柯俊良教授、軍醫局陳中學長，攻讀博士中指導我的 Dr. Chen-Yong Lin, Dr. Michael Johnson, Dr. Chun-Ling Yi, Dr. Anna Riegel, Dr. Steve Byers, Dr. Aykut Uren, Dr. Chaitra Ujjani, 以及家人的支持。



年度研討會中與 Dr. Chen-Yong Lin (右二)及生化學科王正康主任(右一)合影



與 Thesis committee 於博士口試結束後合影