

出國報告（出國類別：學研訪問）

探究慢性腎病患者高心血管風險的原因

服務機關：台北榮民總醫院麻醉部

姓名職稱：主治醫師 王審之

派赴國家：美國

出國期間：104/7/1-106/12/31

報告日期：107/2/6

摘要

為接受理性的邏輯思考、扎實的科學訓練與豐富人生的歷練，進入美國加州大學聖地牙哥分校的史允中教授實驗室參與科研。加入探究腎臟病患高心血管風險的團隊，成員來自猶他大學、西安交通大學和台北榮總，試圖解釋心血管疾病與腎臟病-兩大高度盛行並深深困擾著國人的慢性病-彼此交互影響的機轉。於實驗室接受同事指導學習基本工作，如西方點墨法檢視蛋白質與淬取 RNA 後進行反轉錄與 PCR。其後並進階進行免疫沉降 immunoprecipitation 與 fluorescence in situ hybridization。期間在史教授推薦下旁聽 mass spectrometry 蛋白質分析的大學部課程，並於每周五臨聽學術演講，增廣視野。目前有一篇論文被接受另一篇正在修改 (Fig. 9)，預計三月 20 號回覆期刊審查者的問題。非常感謝醫院與黃憲達教授給予我機會來到 UCSD 進行研究參訪，讓我獲益匪淺。另外也非常謝謝史允中教授的指導，讓我實際參與實驗室的研究。

關鍵字: 心血管疾病、慢性腎病

目次

一、目的.....	1
二、過程.....	1
三、心得及建議.....	8

本文

一、目的

為接受理性的邏輯思考、扎實的科學訓練與豐富人生的歷練，我於博士班指導教授交通大學黃憲達教授的推薦下進入美國加州大學聖地牙哥分校的史允中教授實驗室參與科研。聖地牙哥位於美國南加州，是美國三大(舊金山、波士頓與聖地牙哥)生技業重鎮之一，有著生技金三角與第二個矽谷的稱號。全世界知名的大型生技產業皆座落於此，像是基因定序龍頭illumina、國際製藥大廠默克、輝瑞與嬌生集團。聖地牙哥之所以能成為生技業重鎮除了有資金的支持外，還有學研機構孕育出優秀的生技人才，其中又以加州大學聖地牙哥分校(UCSD)為人才培育的中心。由於在國內曾接觸以腎臟為主題的臨床研究，且本人為本院移植小組的成員，於是乎加入探究腎臟病患心血管風險的團隊，成員來自猶他大學、西安交通大學和台北榮總，試圖解釋心血管疾病與腎臟病-兩大高度盛行並深深困擾著國人的慢性病-彼此交互影響的機轉。

二、過程

由於敝人於國內以臨床工作為主，未曾長時間進入實驗室接受基本生化研究工作相關訓練，進入加州大學聖地牙哥分校以訪問學者身分報到後，即刻接受相關安全講習，並順利取得認證，得已開始於實驗室接受同事指導學習基本工作。

思考訓練:

每週五下午論文報告(Fig. 1)，由各研究生選出相關主題高點數期刊之論文，為不浪費大家時間，於禮拜三之前使用群組分享當週報告論文，以利事先閱讀，報告時使用英文以結果呈現為主，簡單明瞭，不須過多投影片。之後進行腦力激盪，交叉討論，主要目的在於檢視此論文對實驗室目前進行的研究有何衝擊與可供效法的方向。結束後則進行進度報告(Fig. 2)，由研究生將本身進行的實驗結果向大家說明，如有遭遇困難，則有老師指派協助指導人員，以利趕上進度。

Fig.1 journal club slides

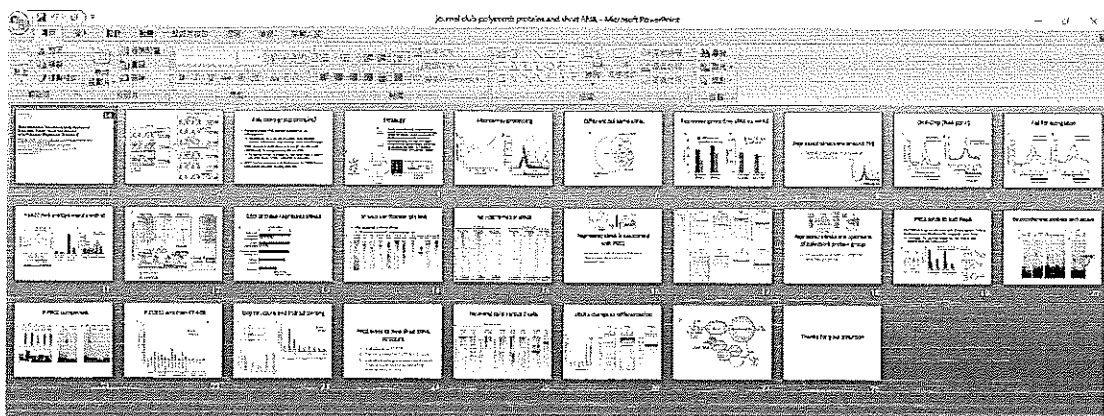
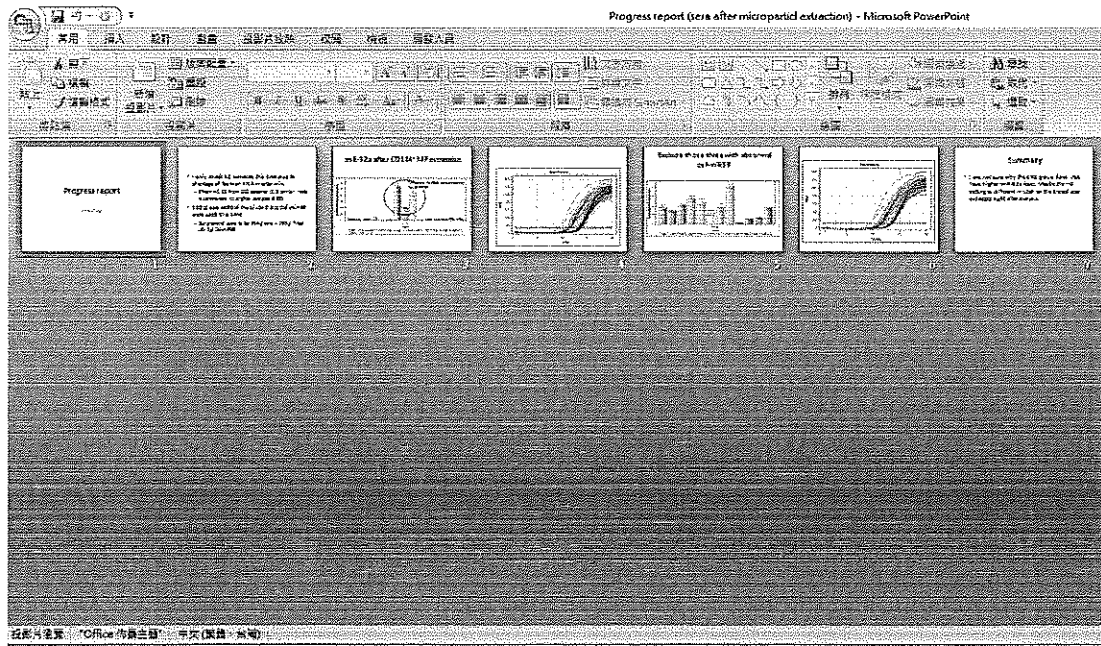


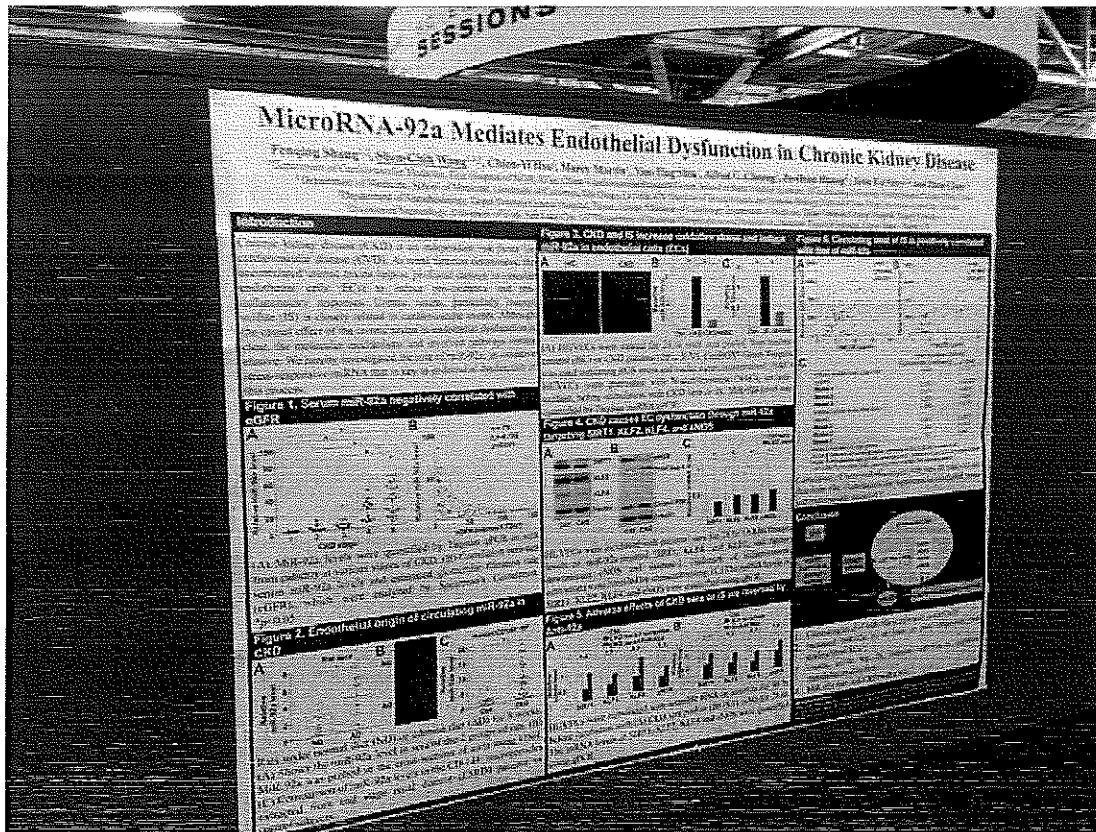
Fig 2. Progress report



課程訓練:

期間在史教授推薦下旁聽 mass spectrometry 蛋白質分析的大學部課程，並於每周五聆聽學術演講，增廣視野。更於去年十一月前往紐奧良參與美國心臟科醫學會年度聚會發表海報論文(Fig. 3)。對於 mass spectrometry，此一有潛力之蛋白質分析技術，雖然基本理論離我本行過於遙遠，談白說吸收有限。但時間不可謂之白費，就我個人觀點，現今生化研究，著眼於大數據分析，基因部分技術業已成熟，但身為反應鍊中最後一環的蛋白質卻受限於技術，始終無法像基因一般可以快速而大量的分析。Mass spectrometry 及提供這樣的可能性。當然目前仍有瓶頸，檢體準備是一門學問，如何將蛋白質這一個大分子打碎但有不致過度破壞，深深地影響結果的判讀。有趣的是曾有人將同一蛋白質交予世界上 20 個不同的實驗室分析，結果 mass spectrometry 數據判讀每間實驗室都不一樣。問題在於如果單就質電量影響之飛行距離來判讀，需要經驗來降低不準確度，而這並不容易有個統一的標準，定序定出甚麼很清楚，mass spectrometry 將看不見的胺基酸以另一種數據呈現，後續的判讀會有失真的情形。

Fig. 3 poster in AHA



工作訓練:

西方點墨法檢視蛋白質(Fig. 4)與淬取 RNA 後進行反轉錄與 PCR(Fig 5)。其後並進階進行免疫沉降 immunoprecipitation(Fig. 6)與 fluorescence in situ hybridization(Fig. 7)。進一步通過加州大學聖地牙哥分校動物實驗認證，然礙於經費不足，惜無法實際操作。

Fig.4 western blot

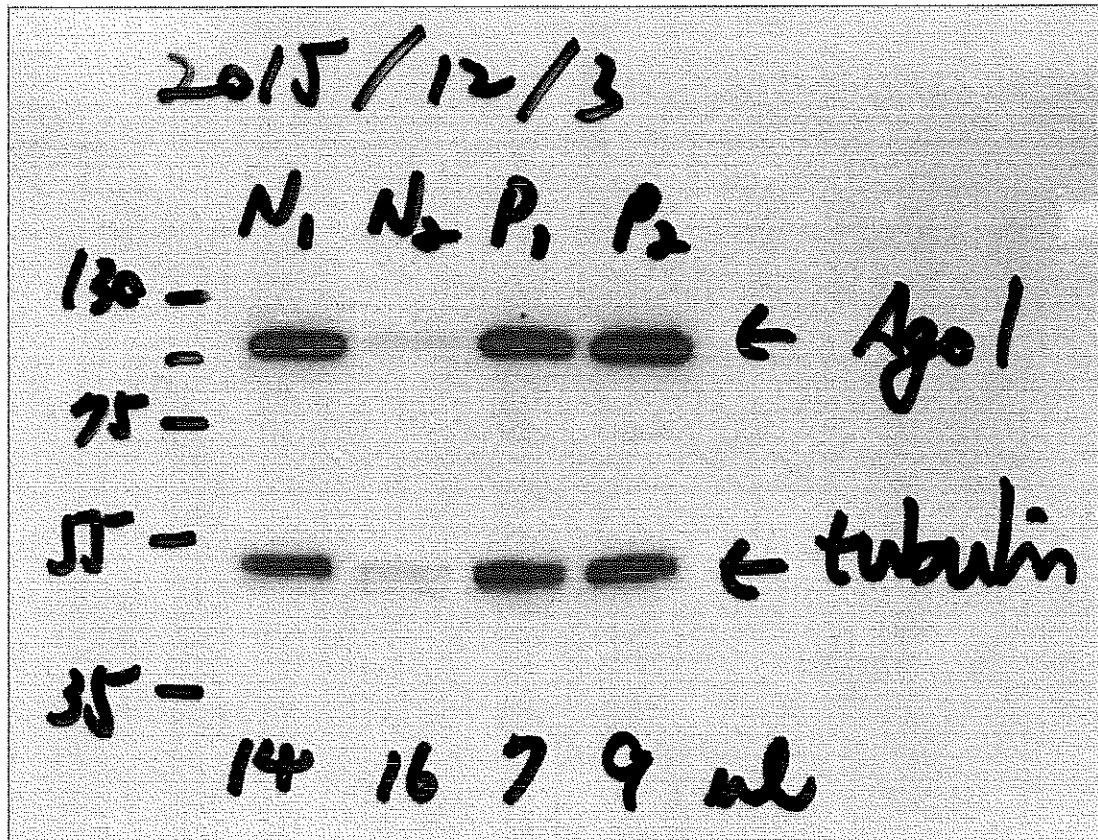
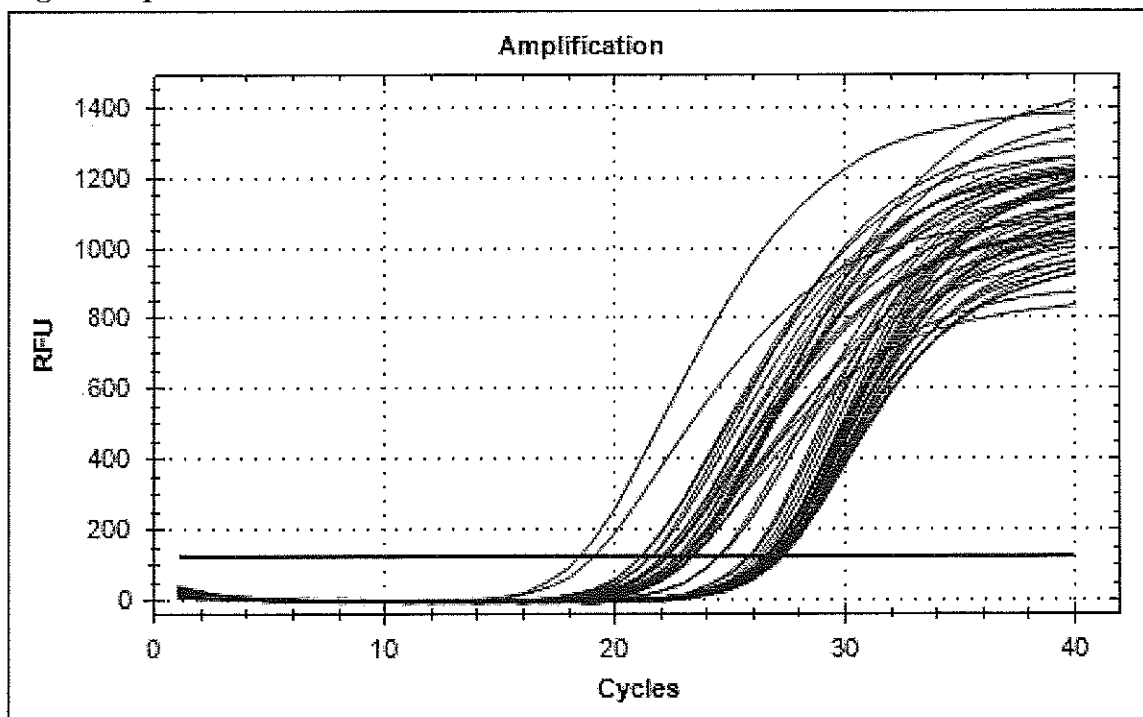


Fig 5 RT-qPCR



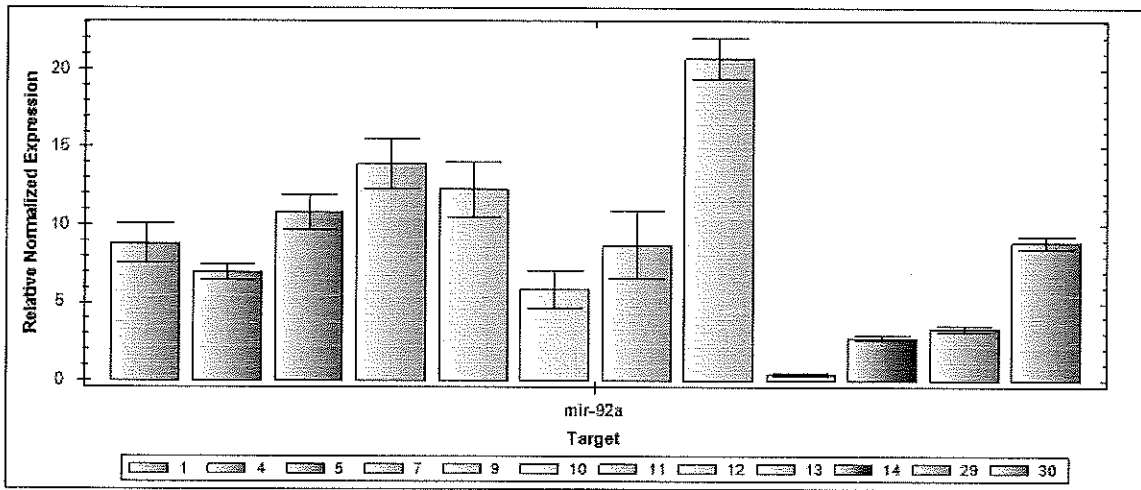


Fig.6 Co-IP

C

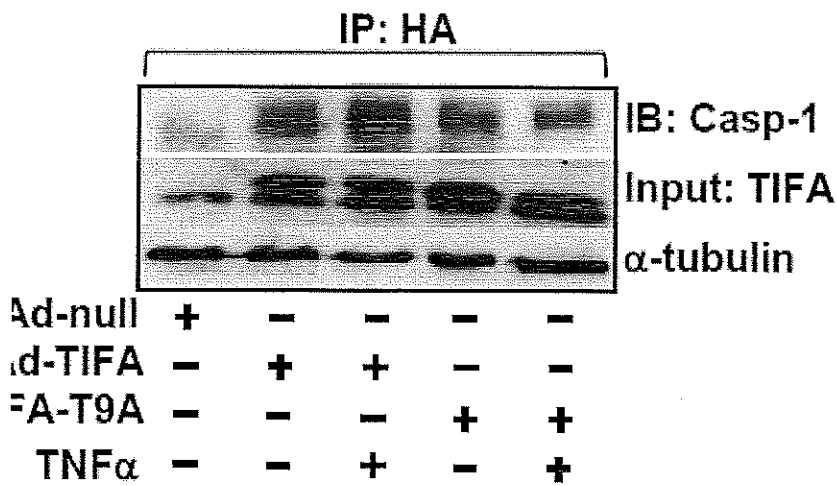
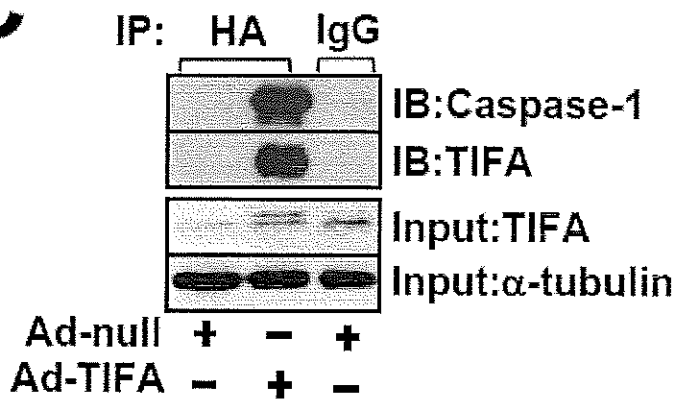
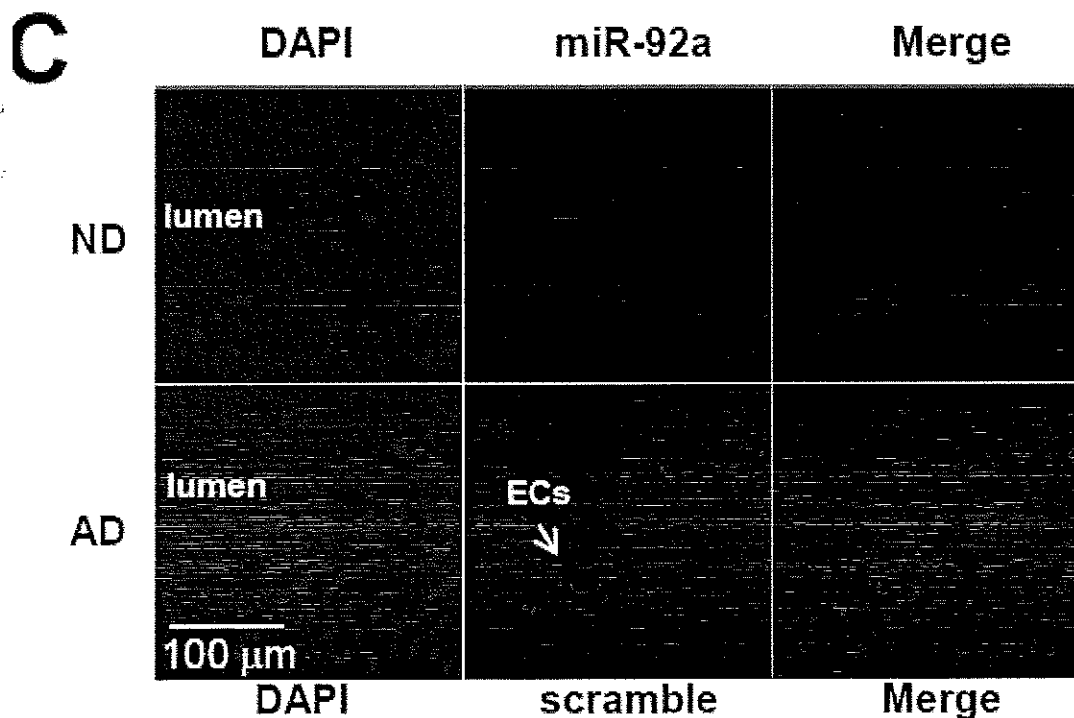
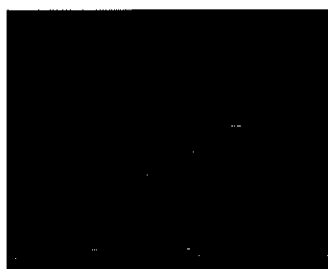


Fig. 7 Fluorescence in situ hybridization



寫作訓練:

每周挑選至少四篇相關主題論文寫讀書心得，整理重點。一年半下來共計約 350 篇讀書心得(Fig. 8)。在要求不可複製貼上下，硬是使讀論文與英文寫作功力成長不少。整理重點對於日後主題論文寫作投稿幫助尤其重大，因平常就有在看相關研究，因此寫論文引用其他文章時更加容易，達到事半功倍之效。

Fig. 8 paper reading reports

<input type="checkbox"/> paper reading 20161017 STIP and lung cancer	15/10/2016 3:58
<input type="checkbox"/> paper reading 20161017 Impaired vascular function contributes to overexposure in chronic kidney disease	12/10/2016 8:44
<input type="checkbox"/> paper reading 20161016 Is Dietary Red Meat Kidney Toxic	12/10/2016 8:51
<input type="checkbox"/> paper reading 20161016 BP Control and Long-term ESRD risk	12/10/2016 5:04
<input type="checkbox"/> paper reading 20161009 The dynamic interactions and genomic targets of Polycomb complexes during stem	8/10/2016 2:55
<input type="checkbox"/> paper reading 20161009 Red Meat Intake and Risk of ESRD	8/10/2016 8:54
<input type="checkbox"/> paper reading 20161009 Vascular Function and Uric Acid	5/10/2016 5:30
<input type="checkbox"/> paper reading 20161009 MicroRNA-149 knockout mice and AKI	4/10/2016 7:41
<input type="checkbox"/> paper reading 20161002 Dissecting the precise role of H3K9 methylation in crosstalk with DNA maintenance methylation in mammals	10/9/2016 4:45
<input type="checkbox"/> paper reading 20161002 L1 trapping and endothelial function	23/9/2016 7:16
<input type="checkbox"/> paper reading 20161002 Microvascular endothelial dysfunction is associated with albuminuria and CKD in older adults	21/9/2016 8:25
<input type="checkbox"/> paper reading 20161002 Moderate Increase of Indoxyl Sulfate Promotes Monocyte Transition into Proinflammatory Macrophages	27/8/2016 12:17
<input type="checkbox"/> ed134nov miR-92a	27/9/2016 5:01
<input type="checkbox"/> paper reading 20160925 meta analysis for pCS and IS mortality	24/9/2016 2:23
<input type="checkbox"/> journal club 0929	24/9/2016 1:54
<input type="checkbox"/> paper reading 20160925 Heterochromatin revisited	21/9/2016 3:43
<input type="checkbox"/> paper reading 20160925 Serum free Indoxyl Sulfate Associated with in-stent thrombus	21/9/2016 2:59
<input type="checkbox"/> paper reading 20160925 Restricted epigenetic inheritance of H3K9 methylation	21/9/2016 1:53
<input type="checkbox"/> paper reading 20160917 pCS and pCS inhibit endothelial proliferation and repair	18/9/2016 5:07
<input type="checkbox"/> FISH 0915	16/9/2016 9:03
<input type="checkbox"/> paper reading 20160917 Epigenetic inheritance uncoupled from sequence	14/9/2016 4:19
<input type="checkbox"/> paper reading 20160917 The remote ischemic preconditioning stimulus modifies gene expression in mouse myocardium	13/9/2016 3:26
<input type="checkbox"/> paper reading 20160917 Ischemic preconditioning accelerates the fatty acid oxidation of rat hearts	13/9/2016 3:11
<input type="checkbox"/> 201609 Dart	10/9/2016 7:15
<input type="checkbox"/> journal club polycomb proteins and their RNA	10/9/2016 1:40
<input type="checkbox"/> FISH Low adenine diet miR92a probe	8/9/2016 1:52
<input type="checkbox"/> paper reading 20160908 MicroRNA in Metabolic Re-arrangement	7/9/2016 2:11
<input type="checkbox"/> paper reading 20160908 HIF-1α is key element for RIPC	3/9/2016 2:11
<input type="checkbox"/> paper reading 20160908 MAPK in RIPC and IPG	2/9/2016 4:37
<input type="checkbox"/> IP-ASC, IS-TIFA	2/9/2016 8:44
<input type="checkbox"/> paper reading 20160908 Identical lncRNAs Regulate Liver Protection during Anesthetic and Ischemic Preconditioning in Rats	2/9/2016 3:40
<input type="checkbox"/> paper reading 20160902 Short RNAs Are Transcribed from Repressed Polycomb Target Genes and Interact with Polycomb Repress...	1/9/2016 6:05
<input type="checkbox"/> paper reading 20160902 Ischemic preconditioning and empk	31/8/2016 4:24
<input type="checkbox"/> paper reading 20160902 Renoprotection by remote ischemic conditioning during elective coronary revascularization	30/8/2016 8:43
<input type="checkbox"/> paper reading 20160902 miR-489 in IR kidney injury	30/8/2016 8:44
<input type="checkbox"/> paper reading 20160902 Chromatin	25/8/2016 5:42
<input type="checkbox"/> paper reading 20160902 Efficacy of Folic Acid Therapy on the Progression of Chronic Kidney Disease	25/8/2016 3:41
<input type="checkbox"/> paper reading 20160826 Effect of Homocysteine Lowering on Mortality and Vascular Disease in Advanced Chronic Kidney Disease	24/8/2016 3:27
<input type="checkbox"/> paper reading 20160826 Metformin use and mortality in patients with advanced chronic kidney disease	23/8/2016 1:14
<input type="checkbox"/> paper reading 20160820 The Cardiovascular Effect of the Uremic Solute Indole	18/8/2016 7:19
<input type="checkbox"/> paper reading 20160820 Targeting inflammation, new targets in CKD	17/8/2016 8:37
<input type="checkbox"/> Progress report 0816	17/8/2016 6:30
<input type="checkbox"/> paper reading 20160820 Decreased Number and Impaired Angiogenic Function of Endothelial Progenitor Cells in Patients With Chr...	16/8/2016 4:35
<input type="checkbox"/> paper reading 20160820 long term anti-miR33 cause metabolic dysfunction	16/8/2016 2:55
<input type="checkbox"/> paper reading 20160819 Association of H3K27 Variants and Trimethyllysine N	15/8/2016 4:36
<input type="checkbox"/> paper reading 20160813 Hematopoietic miR126 protects IR	5/8/2016 6:18
<input type="checkbox"/> journal club Hematopoietic MicroRNA-126 Protects against	5/8/2016 4:10
<input type="checkbox"/> paper reading 20160813 Serum microRNAs are altered in various stages of chronic kidney disease	3/8/2016 4:40
<input type="checkbox"/> paper reading 20160813 Plasma levels of microRNA in chronic kidney disease	3/8/2016 2:29
<input type="checkbox"/> CD144 LRP activation	5/8/2016 7:16
<input type="checkbox"/> paper reading 20160806 miR-126 in CKD	4/8/2016 11:40
<input type="checkbox"/> paper reading 20160806 Possible involvement of microRNAs in vascular damage in experimental	2/8/2016 3:38
<input type="checkbox"/> paper reading 20160806 Lipid vesicles	2/8/2016 2:30
<input type="checkbox"/> paper reading 20160806 Shedding vesicles review	1/8/2016 2:55
<input type="checkbox"/> paper reading 20160730 Contribution of microRNA to pathological fibrosis in cardiorenal syndrome	28/7/2016 2:44
<input type="checkbox"/> paper reading 20160730 Endothelial Microparticles	26/7/2016 9:15
<input type="checkbox"/> Progress report (sera after microparticle extraction)	25/7/2016 1:03
<input type="checkbox"/> paper reading 20160730 Differential miRNA Expression in Cells and Exotic Vesicles in Vascular Smooth Muscle Cells from Rats with ...	27/7/2016 6:06
<input type="checkbox"/> paper reading 20160730 miRNAs change under high phosphorus and lead to calcification	26/7/2016 8:09
<input type="checkbox"/> paper reading 20160723 Vascular endothelial microparticles	21/7/2016 8:23
<input type="checkbox"/> paper reading 20160723 Deleterious vascular effects of indoxyl sulfate and reversal by oral adsorbent AST	20/7/2016 5:44
<input type="checkbox"/> paper reading 20160723 Crosstalk between TGF and miRNA	19/7/2016 8:17
<input type="checkbox"/> paper reading 20160723 Exosomal microRNA and brown adipose activity	19/7/2016 2:50
<input type="checkbox"/> Progress report 0719	16/7/2016 2:38
<input type="checkbox"/> paper reading 20160714 VEGF stimulates miR1792 cluster and promote angiogenesis	14/7/2016 5:48
<input type="checkbox"/> paper reading 20160714 Endothelial damage and vascular calcification in patients with chronic kidney disease	13/7/2016 2:26
<input type="checkbox"/> paper reading 20160714 TMAP review	13/7/2016 1:00

成果

目前有一篇論文被接受另一篇正在修改 (Fig. 9)，預計三月二十號前回覆期刊審查者的問題。

Fig. 9 accepted paper

Receipt of New PNAS MS#2016-18773 收件匣 X

journalstaff@pnascentral.org 11月21日

寄給我

英文 中文 (繁體) 翻譯郵件 關閉下列語言的翻譯功能: 英文 X

November 21, 2016

Title: "TIFA as a Crucial Mediator for NLRP3 Inflammasome"

Tracking #: 2016-18773

Author(s):
 TINGYANG LIN (UCSD)
 Tong-You Wade Wei (Institute of Biochemical Sciences, National Taiwan University,
 Taipei 115, Taiwan; Institute of Biological Chemistry, Academia Sinica, Taipei 115,
 Taiwan)
 Shuai Li (Department of Breast Cancer Pathology and Research Laboratory, Tianjin
 Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin 30060, China)
 Shen-Chih Wang (Department of Medicine, University of California, San Diego, La
 Jolla, CA 92093; Department of Anesthesiology Taipei Veterans General Hospital,
 Taipei 115, Taiwan)

未來方向

1. **TIFA and inflammasome:** UCSD 已有 TIFA knockout mice，並史教授已於美國申請五年計畫，探討主題包含敗血症與肥胖。這部份後續的研究我們可以著力的地方在於 epigenome 的研究。構想為與工研院合作探討 digital PCR 是否可以快速檢視基因摺疊部分，來看表觀基因調控於其中所扮演的角色。已與工研院相關專利擁有者討論，尚未提出計畫。
2. **Microparticle:** 本研究使用之 microparticle extraction 方法需 24 小時且 250ul 血液檢體，目前構想為與工研院合作使用 immune PCR 加速檢驗流程，縮短至三小時，檢體量僅需 1ul。期可以大規模臨床運用，已與工研院相關專利擁有者討論，預計四月有 preliminary data 提出計畫申請。
3. **MOST:** 在指導教授黃憲達老師的幫助下，加入交通大學、台北榮總腎臟科唐主任與 UCSD 的合作計畫，主要針對困擾著國人的慢性腎臟病進行研究。在錢院士的牽線下目前已與菌相分析權威 Robert Knight 實驗室達成合作共識。

三、心得及建議

(一) 心得:

第一次來到美國，對於任何事物都充滿著好奇，舉凡食、衣、住、行，每一方面都讓我感到很新鮮。美國的房子大部分都是木造屋，喜歡使用黃燈。我的小孩幸運地都蠻適應這兒童的樂園。享受小學裡的資源，接受教育。霸凌與歧視的問題，也許是因為學區好，並不嚴重。內人更進一步參與社區大學的英文課程，認識了各國的朋友，體驗不同文化。非常有趣。UCSD 的校園環境很棒，每棟建築都很有特色，生物醫學大樓是以節能自動的理念所建造，每天一進實驗室燈就會自然打開，還有光線會自動調整，再來就是每個實驗室都非常的靠近，隨時都能夠看到大家彼此討論研究與作實驗的過程。UCSD 每週都會安排好幾場的演講，我們可以針對自己有興趣的演講主題，排出時間前往聆聽。非常感謝老師（黃憲達教授）給予我機會來到UCSD 進行研究參訪，讓我獲益匪淺。另外也非常謝謝史允中教授的指導，讓我實際參與實驗室的研究。

(二) 建議

一年時間的確有點短，光是一開始找房子安頓下來，可能就一個月沒了。兩年差不多對當地文化與實驗主題會有一個比較深入的了解。

