出國報告（出國類別：進修 ）

內質網蛋白 TXNDC5 在血管擾流引致內皮細胞功能異常與動脈粥狀硬化的角色

服務機關：國立臺灣大學醫學院附設醫院

姓名：葉志凡

派赴國家：美國

出國期間：107 年 11 月 12 日至 109 年 11 月 5 日

報告日期：109 年 11 月 12 日

摘要

芝加哥大學方勻教授（Yun Fang）為血管生物學（vascular biology）的卓越學者，因為藥理所楊鎧鍵老師跟他的合作，讓我有機會前往其實驗室進行進修，主要是學習並帶回機械力傳導跟血管生物學的知識跟技術，並且藉由其實驗室的能量，學習內皮細胞的代謝（metabolism）、表觀遺傳學（epigenetics）、表觀轉錄組學（epitranscriptome）、奈米技術生物應用等，並了解如何藉由奈米粒子做基因治療來達成疾病治療。此趟進修，除了知識跟技術上的獲得，也獲得一些獎項的肯定，更重要的是了解研究發展的寬廣，以及合作的重要性，更深刻體認到，研究環境創造及熱情保持為繼續研究發展的動力。

目次

目的.....1

過程.....1

成果展現.....4

心得.....4

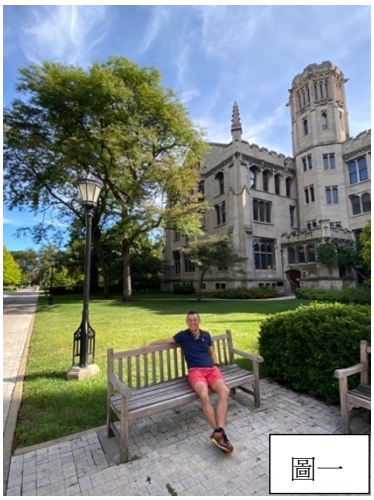
建議事項.....5

目的

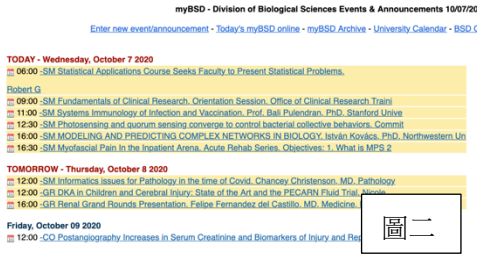
此次進修的目的，首先是增進雙方研究單位的合作，方勻教授（Yun Fang）跟藥理所楊鎧鍵老師（我博士班的指導教授）一直都有合作，然而至今尚無人員的交流，因此我是第一位建立起這個聯繫的人；再來，臺大缺乏研究內皮細胞機械力傳導（mechano-transduction）的團隊，因此我主要是學習這套系統，將其帶回臺灣並繼續相關研究的發展。再加上我本身是心臟科醫師，主攻冠狀動脈心臟病，因此研究動脈硬化及其可發展的治療就成為我未來發展的研究發展主軸。

過程

芝加哥大學位於芝加哥的南邊，是個極富盛名的大學，它亦是美洲大學協會 14 個創始會員之一，它是由 John Davison Rockefeller 創辦（另外一個著名的大學是 Rockefeller University），學校創建至今已超過 100 年，所以校園很多建築充滿著古色古香的氣息（圖一）。由於芝加哥大學建成第一座擁可控原子核分裂鏈式反應堆，也因此被稱為原子能誕生地，它亦擁有很多諾貝爾獎得主（至今 100 位），是個充滿學術氣息的大學。


圖一

由於 Pritzker 家族對於芝加哥大學的捐助，我加入的醫學院全名是 Pritzker School of Medicine，它有很多醫院醫學院大樓，我主要工作的地方是其中一開始起家的醫院所在地 (Biological Sciences Division)。每一天都有如同臺大醫院/醫學院的活動公告（圖二）會寄到你登記的信箱，其中包含每個月的內科 grand round。這些活動提供的，不僅僅是臨床的發展跟研究，更充滿著基礎研究的討論。因為我所在的實驗室是隸屬於胸腔科，但是實驗室的研究方向都跟心血管疾病有關，因此不管胸腔科或是心臟科的研究會議我們都會參加。兩個科固定都會有學術演講，尤其是會邀請其他著名學者，可以得到很多最新的研究資訊跟方向（圖三）；此外，胸腔科有一個固定的研究會議討論，了解科內各個實驗室最新的研究，並且藉由討論來給予新的意見。這些研究討論，讓我更清楚知道研

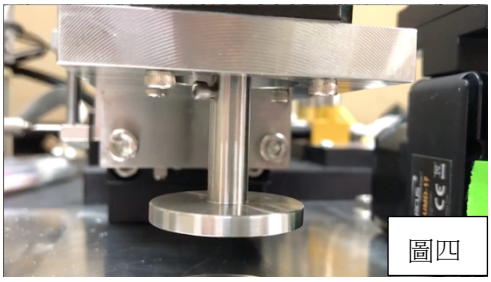


圖二

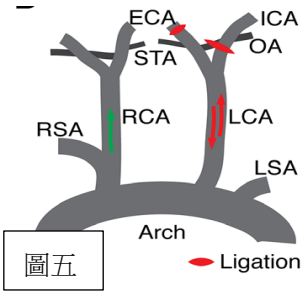


圖三

究的發展要如何進行，以及未來的發展要朝哪些方向前進。


圖四

此趟進修的目的，主要是延續在臺灣進行的內皮細胞 TXNDC5 的研究，並且更近一步學習血管生物學（vascular biology），以及內皮細胞機械力傳導（mechano-transduction）。整個實驗室研究著重在血管生物學，尤其是內皮細胞機械力傳導訊息傳遞及相關研究，實驗室有個模擬頸動脈血流的流體力學系統（圖四），可以給予細胞不同的剪應力（Shear stress），進一步了解生理上對於此流體力學不同的反應。由於我本身是心臟科醫師，因此主要研究的是研究生理上，不同的剪應力以及流體力學不同，為何會造成內皮細胞功能異常，進而造成血管動脈硬化斑塊的形成，再利用小鼠模型來了解於動物活體是否能有表現型的差異。我所研究的基因 TXNDC5 就是利用這兩種模型來研究，分別利用流體力學系統來研究內皮細胞中的 TXNDC5 對於內皮功能的影響，進而影響動脈硬化的生成，再藉由在內皮細胞專門剔除 TXNDC5 的小鼠模型，來了解內皮細胞 TXNDC5 對於動脈硬化的表現型的改變。除此之外，方教授多方合作且利用最新研究發現而有新的研究想法，因此我們利用第九型腺相關病毒（Adeno-associated virus 9, AAV9）來帶著前蛋白轉化酶枯草溶菌素/ kexin 9 型（Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9），進而建立新的動脈硬化模型，再利用我們已經使用的內頸動脈結紮手術（partial carotid ligation，圖五），來造就擾流跟高血脂的動脈硬化模型，也因為兩邊實驗室的支持，這個計畫的成果相當完整跟豐富，這個計畫現在投稿中。



圖五

研究除了著重在延續 TXNDC5 的研究，由於實驗室的能量，我也多方面的學習。實驗室有很多計劃進行中，包含內皮細胞代謝（metabolism）、表觀遺傳學（epigenetics）、表觀轉錄組學（epitranscriptome）、奈米技術生物應用等，也因此我有機會參加其中的幾項研究，並運用我在動物實驗的能力，多方面了解 vascular biology 以及其最新的研究發展。方教授對科學研究有卓越的洞察力，更重要的是懂得跟很多團隊合作，借助雙方的強項發展獨到的研究。例如在表觀轉錄組學部分，方教授就跟芝加哥大學著名的科學家何川教授（Chuan He）合作。何教授亦是霍華德·休斯醫學研究所的研究員（HHMI），他以發現和解讀轉錄後基因表達調控中可逆的 RNA 甲基化（methylation）的工作而聞名。也因為雙方各有所長，因此研究的能量更為強大，這項研究主要是探討一個之前未被研究的基因 Methyltransferase Like 7a（Mettl7a），這個基因是機械力傳導敏感的基因（mechano-sensitive），並且被認為跟 RNA 的甲基化有關，運用雙方的強項，將各自研究的方向往外擴展，而這樣更可以把新的方向帶到 vascular biology 的研究中，可說是引領相關的研究發展。

此外方教授很早就開始研究 non-coding RNA，尤其是 microRNA（miRNA）的研究，也發表幾篇文章探討 miRNA 在血管內皮細胞功能的重要性，尤其是在機械力傳導（mechano-transduction）部分。為了研究奈米科技在治療冠狀動脈硬化的可行性，方教授跟美國科學研究院院士 Matthew Tirrell 合作研究，Matthew Tirrell 實驗室主要在研究聚合物（polymer）的成分進而製造更合適的生物相容性聚合物以及生物醫學相關的奈米粒子。這項研究主要是利用內頸動脈結紮手術合併高血脂來作為模型，用內皮細胞發炎表現蛋白 Vascular cell adhesion protein 1（VCAM-1）作為接受器，藉此可以特定對於動脈硬化區塊做專一性的治療。而選擇攜帶的載體是抑制 miR92a 的寡核苷酸（oligo-nucleotide），在方教授之前的文章及很多文獻都顯示 miR92a 在內皮細胞的機械力傳導機制以及動脈硬化有其角色，因此抑制 miR92a，可以改變其對下游轉錄因子（KLF2, KLF4）及其他基因的影響，進而減緩或治療動脈硬化；再搭配方教授擁有特殊的基因轉殖老鼠，讓 miR92a 過度表達來看其對動脈硬化表現的影響，這項研究的結果目前都是正向的，應該很快就會有成果的發表。


圖六

一個實驗室的研究能量不僅僅是靠老闆的方向跟能力，還有實驗室同仁的努力。跟我同時來到這個實驗室的，還有一個來自中國的訪問學生（圖六），也給予實驗室不少的合作跟刺激。我們有很多方面的合作，其中我們有一個研究是探討在機械力傳導（mechano-transduction）中磷酸脂質磷酸水解酶 3（Phospholipid Phosphatase 3, PLPP3）跟 Hippo signaling pathway 的 YAP/TAZ 之間的關係，利用內頸動脈結紮手術合併高血脂（*ApoE*$^{-/-}$）的小鼠模型，以及體外（*in vitro*）流體力學系統給予不同剪切力，來探討它們對於動脈硬化的影響，這項研究的成果也相當完整，預計很快會有成果的發表。

2020 年算是一個對大家無法難忘的一年，COVID-19 打亂了所有人的計畫，生物研究尤其是如此。芝加哥在從 3 月 21 日開始整個城市就開始封城，因此除非必須的活動，否則是不能出去活動（連湖邊步道也關閉，避免人群聚集）。然而危機也是轉機，方教授隸屬於胸腔科，再加上內皮細胞在肺部佔有一定角色，實驗室之前就有一些相關的研究，因此方教授運用之前研究的方法跟想法來進行研究。藉由跟 Matthew Tirrell 的合作，讓實驗室負責這方面研究的同仁（圖七）製造合適的奈米粒子，搭配攜帶合適的治療分子（在我們的研究是攜帶 KLF2 mRNA）來治療急性肺損傷，藉此跟於阿貢國家實驗室（Argonne National Laboratory）進行合作，來探討這樣的治療能否成為 COVID-19 造成的肺損傷的治療，並且利用這樣的奈米科技，讓 ACE2 這個蛋白能在肺部表達，進而增加動物實驗的可行


圖七

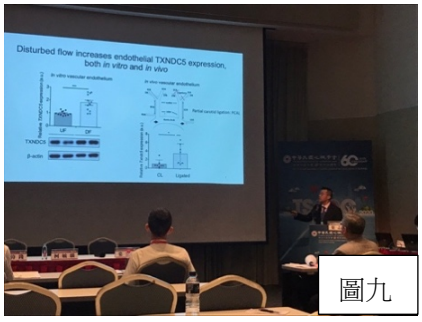
性。除此之外，方教授也利用 TXNDC5 在肺纖維化的角色，利用奈米分子搭配標靶蛋白的策略，成為一個新的治療方向，而初步成果也相當有效，因爲這樣的實驗成果，方教授也爭取到相關圾費的補助。這樣的發展，讓我感受到研究的能量是不斷的累積，再加上對於研究的敏感度跟知識的增長，可以不斷地發展新的方向來解決問題，也因為這樣的前進，也可以更容易申請到研究經費，這是研究的正循環。

成果展現


圖八

研究的進展有些眉目，因此實驗室老闆建議我投稿參加他們一年一度醫學系的 Janet D. Rowley Research Day，這是一個每年都會舉辦的學術活動，紀念 Janet D. Rowley 的貢獻，而每年除了會邀請一位講者給予演講，還會有各方面的研究者參與壁報的投稿。很榮幸的，我得到 2019 年 Basic science 項目中 Best abstract，也於當天給予公開的演講（圖八）。這個不僅僅是肯定團隊的研究成果，更重要的是要利用很簡短的時間，很清楚明瞭的告知我們研究的重點發現，這個對於我的演講能力也有所提升。

此外，我亦參加 2020 年 7 月的中華民國心臟學會年會中年輕醫師研究獎的競賽，本屆心臟學會原訂 5 月舉辦，然而 COVID-19 一開始的不確定性，而且當時嚴禁大型聚會，所以年會延期至 7 月舉行。因為這是相當難得的機會發表我研究的成果，而且這個競賽又有條件的限制，因此楊鎧鍵老師鼓勵我從美國回來參加，當然從美國回來需要隔離 14 天（實際是 15 天），我也嚴格遵守規定。很高興的是，研究的成果獲得評審的肯定，順利獲得首獎（圖九），並在隔天於會員大會再次演講讓大家知道我們的研究成果。這個演講的重點，不僅僅是要讓人知道我們研究的成果跟努力，更重要的是要知道如何在有限時間用大家都能了解的語言跟邏輯來陳述研究成果，可以說是極具挑戰。



圖九

心得

很高興可以有這樣的機會到國外實驗室進修，不僅僅是將自己的研究能量往前推進，更是學習國外學者如何爭取資源，互相合作，並且藉由學術研討來增進自己的學術發展。方教授給我最大的省思跟認知就是，一個人的力量跟能力是有限的，在不斷學習跟切磋的過程中，和他人合作，互相發展各自的優勢，雖然很多時候會讓自己較忙（例如需要寫更多的計畫），但是這樣才能把研究更擴展，

發掘以往他人不知道的領域。此外，因為有這樣的機會，我可以學習兩邊不同的指導，雖然有時會因為兩邊意見跟做事方法的不同而困擾，但是卻也能看到兩邊不同的優點而學習，也期許自己可以多所學習，讓自己研究的道路更為廣闊。


圖十

美國生物科學研究發展的強大，有很多原因，除了他們國家強大而相關資源（支援）夠多，更重要的是人才的前往，而人才的聚集又使得相關發展更為茁壯，形成一個正循環。如同我們實驗室（圖十），很多都是來自美國境外（主要是中國跟臺灣）的博士生或博士後研究者，各自都擁有豐富的知識跟實驗技術，共重要的是各自都有擅長的部分，也因此合作上可以互相學習，研究會議也有更多的激盪。這讓我強烈感受到研究環境創造的重要性（當然研究經費也很重要），楊鎧鍵老師的實驗室就讓我感受跟了解到要如何在國內創造這個環境，這也是將來要從事研究的我需要審思跟努力的方向。

研究的熱情是需要持續的，方教授展現了如何不斷從中學習跟發展，而實驗室的其他同仁，更是表現了如何從科學研究中獲得樂趣跟成就，尤其是胸腔科醫師 David Wu，如何找到研究跟臨床業務的平衡，成為一個好的 physician scientist，就成為很好的示範，而這也是我努力前進的目標。雖然這在國內是極具挑戰，然而如同醫療臨床業務一樣，如何從中接受挑戰並獲得成就是支持往前發展的動力，如何保持初心，保持對科學研究的熱情，是我要持續提醒自己繼續下去的動力。

建議事項

國外的教職系統跟臺灣不同，例如在實驗室中就看到兩個在臺灣沒有的例子。方教授本身是 PhD 背景，是個研究導向的教職，但是他的職位卻是隸屬於醫學院中胸腔重症科，而科內也有很多人主要是從事研究工作而非醫療業務；實驗室也有一個胸腔科醫師（David Wu），平常雖有部分時間需要執行臨床業務，但是可以爭取到很多時間從事基礎研究。因此我覺得這樣研究環境的建立有幾個原因：

壹、 薪資結構：他們的薪資會有一部分是從得到的研究補助中獲得。

貳、 醫療專業訓練：他們在各個次專科的訓練中，都需要做研究（有些是規定臨床研究員要花一到兩年專門做研究），鼓勵醫師多接觸研究，這樣可以增加醫師對於研究的了解，更能找出對於這方面有興趣的醫師加入。

參、 臨床業務跟研究時間的分配：為了鼓勵醫師從事研究，若有心要做研究的醫師，臨床業務會相對減低，但其研究評比的需求就較其他醫師為重。

因此若我們理解並希望有更多醫學相關人才從事研究，那麼我們必須想一下如何創造相關環境，包含如何讓年輕醫師了解研究的重要性，以及資源和環境的可近性，這樣才會有更多醫師的加入。臺大一直在努力創造這樣的環境，包含創立研究型主治醫師的職位，各科主任也努力創造更友善的研究環境鼓勵年輕醫師的加入跟投入，例如心臟科主任陳文鍾教授就每個月邀請三位醫師報告他們的研究進度，並給予相關的建議，以及幫忙找到可以運用的資源。然而我們的整個醫療環境跟教育制度中還是欠缺這方面的友善環境，主要是同時從事醫療服務跟研究的醫療人員格外辛苦，因此如何創造合適的環境鼓勵各方面的人才，才能讓研究環境更為熱絡，更重要的是讓合作不只是空談，這樣才能讓研究的能量發揮到最大值，這應該是我們努力的方向，也是我們必須好好思考如何改善的目標。