

出國報告（出國類別：進修）

## 2022-2023 年美國約翰霍普金斯大學醫學院 Sidney Kimmel 綜合癌症中心進修報告

服務機關：高雄榮民總醫院/內科部胃腸肝膽科

姓名職稱：孫煒智/主治醫師

派赴國家：美國

出國期間：2022/10/01-2023/12/31

報告日期：2024/01/29

## 摘要

職於美國約翰醫院腫瘤科 Lei Zheng 教授的實驗室進修期間，進行胰臟癌最新致病機轉及其基因變異與腫瘤微環境免疫細胞相關性的研究，其研究團隊證實了胰臟癌神經周圍浸潤與軸突導向基因第三類 semaphorin D 變異的相關性，職在此創新研究成果及理論基礎之上，進一步研究胰臟癌軸突導向基因第三類 semaphorin C/D 蛋白如何調控影響神經軸突生長的機轉。此外，與 Zheng 教授有長期合作的哈佛醫學院麻州總醫院 William L.Hwang 教授，其研究團隊亦發現了數個最新的神經發霍普金斯展基因表現變異與胰臟癌神經周圍浸潤有關，職則針對 Hwang 教授所發現的基因，利用 Zheng 教授的胰臟癌病患腫瘤全基因定序資料與多重免疫組織化學染色結果，進一步探討分析胰臟癌神經發展基因變異與腫瘤微環境免疫細胞的關聯性。

**關鍵字** 胰臟癌，神經周圍浸潤，軸突導向基因，第三類 semaphorin

# 目次

一、目的 .....	4
二、過程 .....	4
三、心得及建議 .....	12
附錄 .....	14

## 一、目的

職自 2015 年成為本院內科部胃腸肝膽科專任主治醫師以來，便一直持續精進本身逆行性膽胰內視鏡及內視鏡超音波的技術能力，致力於膽胰道疾病的診斷及治療，累積了許多應用在胰臟癌的內視鏡診療經驗，也因此對於胰臟癌這個疾病產生濃厚的興趣，雖然胃腸肝膽科醫師在胰臟癌診療所扮演的腳色，往往僅在組織病理診斷及併發症的處理，但本身也對胰臟癌的治療也充滿了好奇，因而對自己在這個領域的參與及突破有著深深的期待，很幸運地在 2018 年底受到時任本科主任且亦是本院胰臟癌團隊召集人陳文誌主任的鼓勵與指派，提出了 2020 年出國進修的申請，在 2019 年中確認申請通過醫院核准後，便開始積極找尋相關領域的指導教授，花了約半年總算獲得美國約翰霍普金斯醫院腫瘤科醫師 Lei Zheng 教授的邀請同意，爾後因全球疫情影響而延後至 2022 下半年才終於順利出發。Zheng 教授除了是有在負責臨床胰臟癌病患門診診療諮詢工作的腫瘤科專科醫師，他也是約翰霍普金斯醫院胰臟癌精準醫療卓越中心計畫負責人，亦是約翰霍普金斯大學醫學院 Sidney Kimmel 綜合癌症中心的實驗室主持人，Zheng 教授的研究團隊主要致力於胰臟癌腫瘤微環境免疫生物學及免疫療法的研究，此外，亦著重胰臟癌最新致病機轉的研究。胰臟癌是一種惡性度極高、易遠端轉移、易有治療抗性且預後極差的癌症，其高惡性度則與胰臟癌神經周圍浸潤有關，而 Zheng 教授證實胰臟癌軸突導向基因第三類 semaphorin D (Sema3D) 與其神經周圍浸潤的關聯性，Zheng 教授發現第三類 semaphorin D 蛋白會造成胰臟癌神經周圍浸潤增加而造成預後更差，並在 2019 年於胃腸肝膽科知名頂尖期刊 Gastroenterology 發表了此創新發現，至於第三類 semaphorin 蛋白是如何調控影響神經軸突生長的機轉，又與胰臟癌腫瘤微環境免疫細胞的關聯性，則是 Zheng 教授實驗團隊的下一步研究重點，因此 Zheng 教授便安排我參與其中，目的是藉此過程讓我建構基礎研究的概念與知識，也學習細胞實驗、動物實驗、免疫染色實驗、基因分析等許多的實驗研究方法及技術，此外也規畫讓我將研究成果發表在知名期刊。

## 二、過程

### 2022 年 10 月

這個月其實算是來到美國的第二個月了，因為聽取了曾經也是來約翰霍普金斯大學醫學院進修的學長蔡峯偉醫師的建議，為了能讓自己準時在進修計畫開始日報到後盡快進入狀況，舉家提

早在九月初就先入境美國來到約翰霍普金斯大學醫學院所在的馬里蘭州，利用兩個禮拜時間趕緊安排好公寓住宿、網路通訊、交通汽車、及孩子教育等日常生活所需，完成了安頓全家的工作後，才發了封郵件給 Zheng 教授讓他知道我平安順利抵達，教授也迫不及待約我在線上先見面聊聊，教授提到因為日後的進修會需要做到動物實驗，有一些課程必須要先完成，他建議我可以提早去報到趕快開始上課，因此要求實驗室經理趕緊替我安排，但因為實驗室所在的研究大樓進出都需要識別證，而識別證的領取時間必須依據 DS2019 的開始日期，因此仍是到了 10 月 1 日才到實驗室報到。報到當天有兩位實驗室經理 Gigi 與 India 帶著我作實驗室的環境介紹，順便介紹實驗室的成員讓我認識，也替我安排了我的辦公桌及實驗室桌位，實驗室是位在 Sidney Kimmel 綜合癌症中心的第一癌症研究大樓(Cancer Research Building I)的三樓，癌症中心還有一棟第二癌症研究大樓，兩棟大樓的地下層都有動物房。完成環境介紹後，便自行前往醫院辦理申請識別證及停車場租用，約翰霍普金斯大學醫學院及醫院所在的巴爾的摩市的治安並不好，因此國外來此進修的學者，通常都是住在市郊再開車來醫院，我當時就是住在離實驗室開車距離約半小時的 Timonium，實驗室附近的停車位非常昂貴，因此為了省錢通常會租用較便宜但距離實驗室較遠的停車場，中間有免費接駁車可搭乘。在實驗室經理幫我申請開通院內信箱帳號後，也就算是完成初步的報到手續了，爾後便開始上動物實驗的課程，所有的課程都是在線上完成，完成通過測驗後，則還需要與動物房管理員約時間做動物房的環境及規範介紹，過程中管理員也會抽問線上課程教授的一些重要注意事項，完成後才能有權限可進出動物房。這個月也跟著兩位實驗室人員 Thomas 及張醫師學習如何做細胞實驗如培養液、配置細胞培養、細胞繼代、凍存細胞、細胞計數等基本實驗技術，也觀摩他們如何操作 ELISA 及 PCR 的儀器，此外也到動物房學習如何做胰臟癌皮下植入、肝轉移、肺轉移動物模組的建立。除了每周三中午所有實驗室成員都要來參加的會議，由所有成員輪流報告自己的實驗主題相關內容，Zheng 教授也替我安排於每周一下午舉行個別會議以了解我的學習狀況及實驗進度，Zheng 教授對於研究團隊的狀況十分關心也因此能隨時發現問題及調整方向。除了基礎研究領域的學習，這個月也受到 Zheng 教授的邀請去參加他們胰臟癌精準醫療多專科團隊一年一度的討論會，會中各團隊簡短扼要地發表過去一年的研究成果，也會提出所遭遇到的一些困難來共同商討對策，此外也說明來年準備要進行的研究及發展計畫，Zheng 教授是位相當稱職且具實踐行動力的團隊召集人，會議過程努力地幫助各團隊思考解決方法，讓我獲益良多。

## 2022 年 11 月

經過上個月的實驗室基礎技術學習後，Zheng 教授也開始替我安排這一年所要負責的實驗主題，Zheng 教授研究團隊過去證實了胰臟癌神經周圍浸潤與軸突導向基因第三類 semaphorin D (Sema3D)變異的相關性，但他們並不曉得這個基因所產生的蛋白是如何調控神經軸突生長，此外，第三類 semaphorin 家族還有其他次分類蛋白 A/B/C/E/F/G，其中 Sema3C 在基因分析判斷可能會與 Sema3D 對神經軸突會有相同的影響，因此 Zheng 教授指派我去完成這部分的研究，另外也指派一位 Juan Fu 老師從旁協助我。首先想要瞭解這個基因蛋白對神經的作用，就必須做出這個基因降表達及過表達的胰臟癌細胞，實驗室所用的人類胰臟癌細胞系是 Panc10.05 cell，而老鼠胰臟癌細胞系是 KPC cell，Sema3C 基因過表達胰臟癌細胞系已由 Juan Fu 老師完成，因此我需要完成的是 Sema3C 基因降表達的胰臟癌細胞系。首先我們依據 Sema3D shRNA 質體的結構，訂購了相同結構的 Sema3C shRNA plasmid in bacterial stock，此質體是存在細菌內，因此我需要先將細菌培養增量以萃取出足夠濃度的質體 DNA，此過程前後約需要三天的時間，完成質體 DNA 提取後，接著就將此質體 DNA 放入 293T 細胞的培養基做轉染以產生 lentivirus，後續利用此病毒去感染 Panc10.05 cell 及 KPC cell，此過程質體 DNA 會進入胰臟癌細胞去影響其 Sema3C 的基因表達，而質體上帶有會產生抗生素(puromycin)抗性基因片段，因此會用含有 puromycin 的培養液來做細胞系的篩選，若有成功植入質體 DNA 的胰臟癌細胞系則不會被殺死，以此認定是否質體 DNA 真的有進到細胞內產生 Sema3C 降表達胰臟癌細胞系，當然仍需要 western blot 做最後的確認，細胞篩選往往需要數周才能確認穩定培養、繼代及凍存我們所需要的細胞系，在這個過程也遭遇了一些小困難，原先所選用的 puromycin 濃度似乎無法完成鑑別篩選，一度以為是否是在轉染或感染的過程失敗，在經過幾次調升抗生素 puromycin 濃度後才順利完成細胞系篩選。此外，這個月也開始到動物房見習 Juan Fu 老師如何從不滿一周大小鼠的脊髓取出背根神經節，為後續研究所需要用到的神經軸突細胞做準備。

## 2022 年 12 月

延續 Sema3C 降表達胰臟癌細胞系的建立，這個月則重複上個月的實驗步驟，著手建立了 Sema3C control cell line 以作為 Sema3C knockdown cell line 的實驗對照之用，有了先前的經驗，這次實驗操作過程顯得順暢許多。此時 Zheng 教授便指派我去跟實驗室同仁 Jessica 及 Margaret 學習如何做多重免疫組織化學染色(immunohistochemistry, IHC)，IHC 是使用抗體檢測組織切片中目標蛋

白質(特定抗原)表達位置與表現程度的實驗技術，IHC 能直觀地顯示目標蛋白在組織、細胞或細胞結構中的定位，並同時保有組織樣本的結構特徵，被廣泛地應用在生物醫學研究及臨床診斷。在學會如何獨力完成多重免疫組織化學染色後，Zheng 教授指派我去協助一位目前正就讀約翰霍普金斯醫學院醫學系的學生 Hector 完成他的研究中的腫瘤免疫組織化學染色，Hector 的研究是有關 Sema3D 胰臟癌老鼠動物模型的建立，需要藉由 Sema3D 及 CK19 抗體 IHC 來證實其動物模型有成功建立，染色過程需反覆調整適當的初級抗體濃度、初級抗體作用時間、及訊號生成時間以得到成功準確的染色結果，很開心最後有完成 Zheng 教授指派的任務，更榮幸成為共同作者，讓醫學生 Hector 順利完成他在醫學院 Scholarly Concentrations Program 學術研討會的壁報發表。這個月仍持續有到動物房見習 Juan Fu 老師如何取出及培養小鼠脊髓背根神經節細胞，也曾嘗試親自動手做此動物實驗。

## 2023 年 1 月

繼上個月學會了多重免疫組織化學染色後，Zheng 教授便接著指派了另外一個任務，請我協助其曾指導過的博士生 Noelle 的研究，其最新研究發現胰臟癌 Sema3D 軸突導向基因會影響腫瘤微環境中的巨噬細胞，藉此機轉來影響胰臟癌惡性度的表現，雖然無法了解整個實驗的內容，但我也幫忙完成該實驗的部分結果，腫瘤組織的 Sema3D 及 TUJ1 多重免疫組織化學染色，也很榮幸得到 Zheng 教授的同意列入該論文發表的共同作者群之中，此文章目前投到知名期刊 Cancer Cell 且仍正在審稿當中，且目前先以 preprint 的方式發表列在 PubMed 檢所資料庫中。在經歷過去三個月 wet lab 學習及實作後，Zheng 教授便試著讓我開始進行 dry lab 的資料統計分析，將約翰霍普金斯醫院胰臟癌病患腫瘤全基因定序資料與多重免疫組織化學染色結果，進一步探討分析胰臟癌軸突導向基因變異與腫瘤微環境免疫細胞的關聯性，列入分析的基因包含 Sema3、Sema4、Sema5、Sema6、PLXN、NRP、ANXA、AUTS2、CNTN4、CTNND2、GLIS1、GLIS3、NFIB、NRCAM、NRXN、RELN、ROBO1、ROBO2、ROBO3、SLIT2，分析的過程學習到了許多基因學的相關知識。

## 2023 年 2 月

在完成 Sema3C knockdown 及 control 胰臟癌細胞的製作後，便要進一步以 western blot 來證實有成功影響胰臟癌細胞標的基因蛋白的表達量，此過程通常需要兩到三個工作天才能獲得結果。western blot 的第一步驟是使用凝膠電泳分離樣品中的大分子。隨後將分離的分子轉移或印漬到

第二個基質上，通常是硝化纖維素膜或聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。接下來，將印漬膜封閉以防止抗體於膜表面產生任何非特異性結合。轉移後的蛋白質最常被以一種抗體組合進行探測：一個是與興趣目標蛋白質具備特異性的抗體(一級抗體)，搭配另一個與一抗的宿主物種擁有特異性的抗體(二級抗體)。二級抗體通常會與酶結合，當其與適當的受質結合時，將產生可供檢測的信號。我研究的 Sema3C 標的蛋白重量為 85kDa，內參蛋白所使用的主要為 GAPDH，其重量為 36kDa。western blot 的步驟看似容易，過程中仍有許多地方需要注意，細胞裂解取得蛋白質的過程要避免降解，煮蛋白的過程也要足夠時間去做 denature 打斷蛋白鏈結，蛋白上樣時也要穩定均勻一致，電泳跑膠時的電壓及時間設定控制，膠片轉膜過程要注意避免非特異性結合及氣泡產生導致轉膜不成功，轉膜的電壓時間也要控制，後續的封膜、一抗、二抗結合環境及時間也都會對結果產生影響，這個月算是第一次學習 western blot 的實驗方法，重複做了幾次結果都不成功，經歷了相當挫敗灰心的一個月。

### 2023 年 3 月

這個月除了持續進行 Sema3C knockdown cell western blot 實驗外，Zheng 教授跟我分享了一篇與他長期有合作的哈佛醫學院麻州總醫院 William L.Hwang 教授所發表的文章，Hwang 教授的論文新發現了二十個基因變異與胰臟癌神經周圍浸潤有關，這些基因分別如下:DLG2、NRCAM、NRXN3、MAPK10、PDGFD、PRKCE、KCNMA1、PKHD1、NCAM1、NRG1、ZNF667、CFTR、ACSM3、C6、PTPRM、HIF1A、ADCY5、AJAP1、NBEA、SCN9A，Zheng 教授認為此創新的發現，非常值得繼續探討這些基因的變異與胰臟癌腫瘤微環境免疫細胞的相關性，此時，有位 Bloomberg-Kimmel Institute for Cancer Immunotherapy 碩士生 Kaiyi Mu 選定 Zheng 教授為其畢業指導教授，Zheng 教授遂指派我與 Kaiyi Mu 一同進行研究分析，即開始針對 Hwang 教授所發現的基因，利用 Zheng 教授的胰臟癌病患腫瘤全基因定序資料與多重免疫組織化學染色結果，進一步探討分析胰臟癌神經發展基因變異與腫瘤微環境免疫細胞的關聯性，Zheng 教授更鼓勵我以指導作者的身分來指導 Kaiyi Mu 於半年內完成此主題論文的撰寫投稿，這對仍在 western blot 持續失敗的我，無疑是一大鼓舞及新的挑戰。

### 2023 年 4 月

經過近一個半月的努力，western blot 總算是得到結果了，亦即確定成功建立 Sema3C 降表達胰臟癌細胞系，接著下一步就是要讓此細胞與小鼠脊髓背根神經節細胞交互作用，來觀察 Sema3C

蛋白如何調控影響神經軸突的生長，然而此刻自己仍無法獨力完成小鼠脊隨背根神經節細胞的取得與初級培養技術，評估大概還需要兩、三個月到七月才可能熟練此技術，若依照原訂進修一年到九月底結束回國，恐怕僅有八月一個月的時間能進行第二階段的研究，因此有了延長進修時間三個月的想法，Zheng 教授也非常鼓勵及願意協助申請，便向時任科主任陳文誌主任提出自己的規劃，雖然當時科內人力已經非常吃緊，但陳主任及科內所有主治醫師仍願意鼎力相助，同意讓我延長進修時間到十二月底，真的非常感謝大家，也讓我對自己多了更多的期待與要求，希望不辜負科內的犧牲奉獻。爾後，便更積極尋找機會精進熟練動物實驗的技術能力，但因為所使用的是出生不到一周大的小鼠，並不是隨時能有適當的動物可供操作，當時也是備感壓力。

### 2023 年 5 月

這個月仍延續上個月的任務，盡快讓自己的動物實驗技術進步穩定，此外也與碩士生 Kaiyi Mu 繼續努力做著基因變異及免疫細胞統計分析的工作。此時科裡來了一個訊息，因為明年五月是本科消化系指導醫院是否能延續的申請時間，所有的指導醫院依規定必須每三年要投稿一篇原著論文到學會的雜誌(Advance in Digestive Medicine)，依學會指示本科最晚須要在六月底前投稿一篇文章，而這個重要任務便落到我的身上，我想這也是報答胃腸肝膽科與科裡所有醫師的一個機會，於是便把過去曾經整理投稿到消化系醫學會年會發表的 ERCP 相關研究數據資料，努力日夜趕工總算在五月底前將文章投稿，也算是進修過程中一段難忘可貴的小插曲。

### 2023 年 6 月

經歷兩個多月的反覆練習，自己比預期中進步的還快一些，算是可獨立完成小鼠脊隨背根神經節細胞的取得與初級培養，因此便開始下一階段的實驗，在取出神經細胞後，會先用 collagenase 去消化分解神經細胞外圍的一些纖維結締組織，再使用神經細胞培養液保存神經細胞，之後分別取特定數量的神經細胞置入 double chamber well 及 u-slide，double chamber well 實驗是要觀察 Sema3C 蛋白對神經細胞軸突的維持狀況，隨著時間個別紀錄有多少神經軸突消失掉，我們預期 Sema3C knockdown cell 相比 Sema3C control cell 會造成軸突比較無法維持。另外一組是使用 u-slide 來觀察神經細胞軸突生長的偏向性，理論上 Sema3C 蛋白會誘導吸引神經軸突，因此應該會偏向有 Sema3C 蛋白的方向生長，而在 Sema3C control 的偏向角度應該會大於 Sema3C knockdown。因擔心取得的背根神經細胞數量不夠，我們這個月就先針對 Sema3C knockdown 及

control KPC cell 做研究。

## 2023 年 7 月

完成 Sema3C knockdown 及 control KPC cell 的 double chamber well 與 u-slide 研究後，果然如預期的，若將 Sema3C 基因蛋白表達降低，相較 Sema3C 基因蛋白正常表達的細胞，其相互作用的神經細胞軸突會較無法維持，亦即 Sema3C 基因蛋白會促進神經細胞軸突的維持生長，可能因此造成胰臟癌神經周圍浸潤的機會增加。此外，u-slide 實驗也如預期神經細胞軸突生長方向的偏向性，Sema3C 基因蛋白正常表達的偏轉角度會比 Sema3C 基因蛋白表達降低的細胞大，亦即 Sema3C 基因蛋白會吸引神經細胞軸突，也可能因此造成胰臟癌神經周圍浸潤的機會增加。有這樣的結果發現，我們便進一步開始 Sema3C knockdown 及 control Panc10.05 cell 的 double chamber well 與 u-slide 研究。此外，五月投稿到台灣消化系醫學會雜誌的論文也獲得 revision 的機會，更棒的消息是這個雜誌從今年開始被 JCR 收錄成為 SCI 期刊，算是很幸運地多了一篇 SCI 論文的發表。

## 2023 年 8 月

這個月算是來這進修將近一年最特別的一個月，因為每年此時約翰霍普金斯醫院胃腸肝膽科都會舉辦一場知名的內視鏡研討會 Hopkins International Therapeutic Endoscopy Course (HITEC)，課程會分享目前全世界最新的內視鏡診療技術，甚至還有實作課程如 ESD、POEM、ESG、EUS with HotAxios stenting 的安排，讓這個脫離內視鏡臨床工作許久的我，有機會能拿著思念的內視鏡做檢查治療以解思鄉之情，還巧遇一群優秀的台灣醫師不辭辛勞地組團來參加這場會議，覺得自己真是很幸運，剛好可以利用出國進修期間來參加，不必大老遠地飛來參加，而這也是我這趟進修唯一參加的一場研討會，雖然在美東各州也有許多每年定期舉辦的知名胃腸肝膽科年會，但還是決定專注於實驗室基礎醫學的研究與學習，當然還是有現實的花費上的考量顧慮，又再次備感慶幸自己能申請到約翰霍普金斯大學醫學院進修，才能就近參加這場內視鏡的盛宴。除了參加了一場令人開心有收穫的會議之外，另外一個讓人開心的是我也完成了第二階段的動物實驗，與 Sema3C knockdown 及 control KPC cell 的 double chamber well 與 u-slide 研究一樣，我們在 Sema3C knockdown 及 control Panc10.05 cell 得到一樣的結果。此外，更開心的是投稿到台灣消化系醫學會雜誌的論文正式被接受了，自己也總算稍微鬆了一口氣，有完成科裡賦予的使命任務。

## 2023 年 9 月

在完成 wet lab 的研究工作後，Zheng 教授指示我與碩士生 Kaiyi Mu 要將 Hwang 教授所發現的基因變異，利用 Zheng 教授的胰臟癌病患腫瘤全基因定序資料與多重免疫組織化學染色結果，進一步探討分析胰臟癌神經發展基因變異與腫瘤微環境免疫細胞關聯性的文章，論文題目為 Genetic alterations in the neuronal development genes are associated with changes of the tumor immune microenvironment in pancreatic cancer，Zheng 教授要求我們要在一個月內完稿投出，在與碩士生 Kaiyi Mu 討論後，他負責結果部分的撰寫及圖表製作，而其餘的部分則都由我負責完成，事實上壓力真的不小，雖然也都有在撰寫且發表臨床醫學的論文，但對基礎醫學的論文撰寫很陌生，又經歷了一段經常熬夜趕工的日子，最後也總算完成任務。在這個基因變異分析過程中，我們也找尋到了一個新的標的基因 NFIB，Zheng 教授認為這個基因有可能是 Sema3 gene 的上游轉錄調控基因，因此便指派碩士生接續完成這部分的研究，此外，也要求他進一步研究 Sema3E 如何調控影響神經軸突的生長，而我就從旁協助他完成研究。

## 2023 年 10 月

陸續完成 Zheng 教授指派 wet lab 與 dry lab 的工作後，除了主要協助碩士生的研究外，心態上也總算是多了些時間與空間，於是開始把過去統計分析的 ERCP 數據資料拿出來整理撰寫，希望能在年底回國後趕緊投稿出去。此外，正就讀約翰霍普金斯醫學院醫學系的學生 Hector 在研究上又遇上了一些瓶頸，主要也是有關腫瘤免疫組織化學染色，此次 Zheng 教授拜託我直接替他完成 CK19 的腫瘤免疫組織化學染色，我也順利地在一周內將它完成了。另外 Zheng 教授發現 Juan Fu 老師並未完成 Sema3C overexpression Panc10.05 cell 的 u-slide 實驗，於是便要我帶著碩士生 Kaiyi Mu 學習如何取小鼠的背根神經節，因為他之後的研究也會需要用這種實驗方法。

## 2023 年 11 月

兩個月前投稿的論文總算有了消息，也是做了 revision 後，順利地在這個月被接收刊登，此後，碩士生 Kaiyi Mu 便以此篇文章為基礎來報名申請各校的 PhD 學程，我也非常榮幸地受到他的邀請，替他撰寫寄發各校的申請推薦函，真的是一個難忘特別的經驗。

## 2023 年 12 月

最後一個月也開始要做回國的準備了，也跟 Zheng 教授報告了自己的時間規劃，Zheng 教授也要我將實驗結果資料數據、細胞試劑擺放位置、實驗方法紀錄都交班給碩士生 Kaiyi Mu，Zheng

教授也替我安排了一場歡送晚會，讓我有機會好好地跟實驗室團隊的所有同仁道謝與道別，在月初結束了自己在約翰霍普金斯大學醫學院 Sidney Kimmel 綜合癌症中心的進修生活。

### 三、心得及建議（包括改進作法）

#### (一)心得

首先要非常感謝醫院、院部長官、科主任、及科內所有同仁的鼓勵與支持，讓我有機會可以放下臨床工作出國進修，因為疫情的關係，自己的行程也因此被延誤了兩年之久，坦白說過程中也曾經多次有想要放棄的想法，但總覺得這是單位賦予我的一個任務，既然都在醫學中心努力了這麼多年，科裡也許久未有醫師申請出國進修，覺得自己應該代表本科擔起這個責任出國去進修學習開拓視野並增廣見聞。在申請尋找指導老師的過程中，也曾經獲美國明尼蘇達州梅約醫學中心的胃腸肝膽科內視鏡醫師 Dr.Fukami Norio 同意接受我的申請，梅約醫學中心是全美排名第一的醫院，但因為主要是臨床見習內視鏡診療技術，因此僅同意給予半年的簽證，雖然是自己熟悉的領域，相信一定能比較快進入狀況，但考量還是希望能有完整一年的進修時間，此外，也希望能挑戰自我在不同的基礎醫學領域學習全新的事物，因此婉謝了 Dr.Fukami Norio，選擇到約翰霍普金斯大學醫學院 Sidney Kimmel 綜合癌症中心 Lei Zheng 教授的實驗室學習有關胰臟癌的基礎醫學研究，約翰霍普金斯醫院在 2022 年時排行全美第三名的醫院，約翰霍普金斯大學醫學院在全國排行第二名僅次於哈佛大學醫學院，能到這麼有名的醫學中心進修，真的十分開心興奮，當然也要感謝醫院過去對我的栽培，才能申請進入到頂尖的醫學殿堂精進。老實說過程其實十分辛苦，內心的壓力時常很大，自己沒有任何實驗室的基礎，這狀況說實話也讓指導老師 Lei Zheng 教授有些訝異，因此就得更加倍努力從零開始學習許多基礎生醫知識和實驗技術，經常得四處向實驗室同事討教詢問，但偶而也是一知半解，更麻煩的是一知多解又無所適從，只好努力查資料來自我學習及充實自己，但我想這也是此行的目的，讓自己跳脫過去，離開自己的舒適圈去拓展視野及開創新的未來，只是比較可惜的是就是沒有辦法獨立完成主要研究主題的論文發表，因為花費了許多時間在學習如何做實驗，因此進度較為緩慢，在完成第一階段的細胞動物實驗後，才曉得 Zheng 教授還有第二及第三階段的規畫，等完成後才會將此大作發表，但我想我能參與其中一部分的研究過程也是倍感榮耀了。最後還是要再次感謝醫院給我赴國外進修機會，讓我可以專注在基礎生物科學醫學研究中學習成長，並探

索自己未來生涯對於這個領域的興趣及熱忱。

## (二)建議:

呈上所提到的，因為沒有相關的知識經驗而耗費不少時間在建構基礎，的確會失去更多參與研究的機會，在約翰霍普金斯大學醫學院的醫學生和醫院的住院醫師，在他們學習及訓練期間，都會被要求到生物科學醫學相關實驗室進行基礎研究及輪訓，醫學生畢業後申請醫院或住院醫師訓練結束後申請升等主治醫師都需要這方面的經歷甚至成果論文發表，可說是非常嚴格的規定與扎實的訓練，當然以台灣的制度及醫療窘況，大概不太可能有這樣的要求或安排，但若能讓準備出國進修做基礎研究的主治醫師，提早學習相關的知識及技能，相信能在進修過程有更多的收穫與進展。近年來，感謝院長及院部長官的努力，在教研部全體醫教研究人員的大力支持幫忙之下，的確舉辦了許多的訓練學習課程，有很多機會供臨床醫師去精進充實自己，但面對臨床工作時間的限制，往往是心有餘而力不足，這部分也許能設法提供更多彈性的選擇給臨床醫師，例如線上課程、線上學習教材、或請老師到各科在其科內例行會議時間講授等，相信能提升臨床主治醫師的學習效果。此外，之前剛升任主治醫師時，也曾有機會透過醫院的安排，藉由榮中計畫與中山大學的老師有合作的機會，但過程中卻都沒有任何幫忙自己建構基礎研究知識技能的機會，也是相當地可惜，也希望將來在媒合臨床醫師與基礎生醫老師合作時，能有更深度及密切的安排能讓臨床醫師提升自我的基礎研究能力，尤其對於若有意願將來要出國進修的年輕醫師來說，相信會有很大的助益，能讓將來的進修起步較為順暢且讓進修之路更加寬廣。

# 附錄



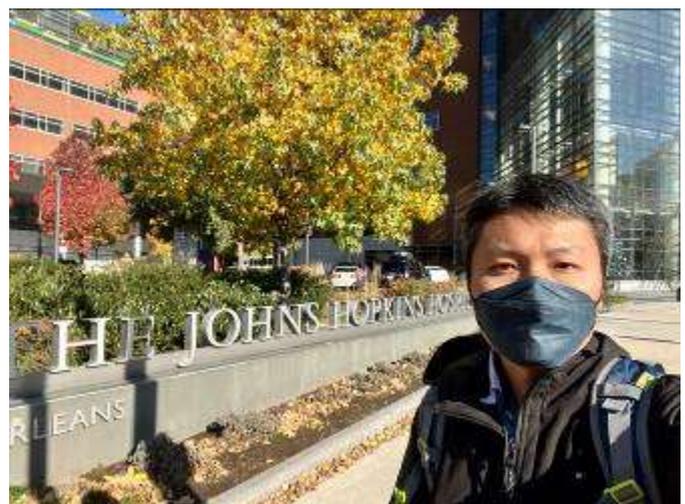
約翰霍普金斯醫院著名的圓頂建築



實驗室所在的 Sidney Kimmel 癌症中心第一癌症研究大樓



約翰霍普金斯醫院醫療大樓

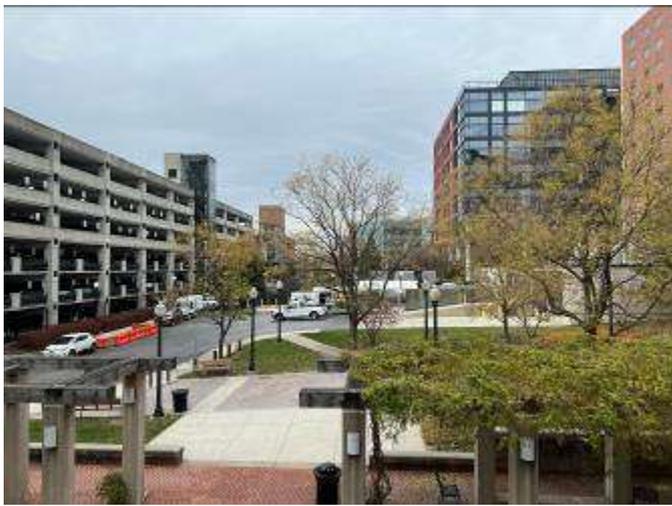




約翰霍普金斯醫院門診大樓



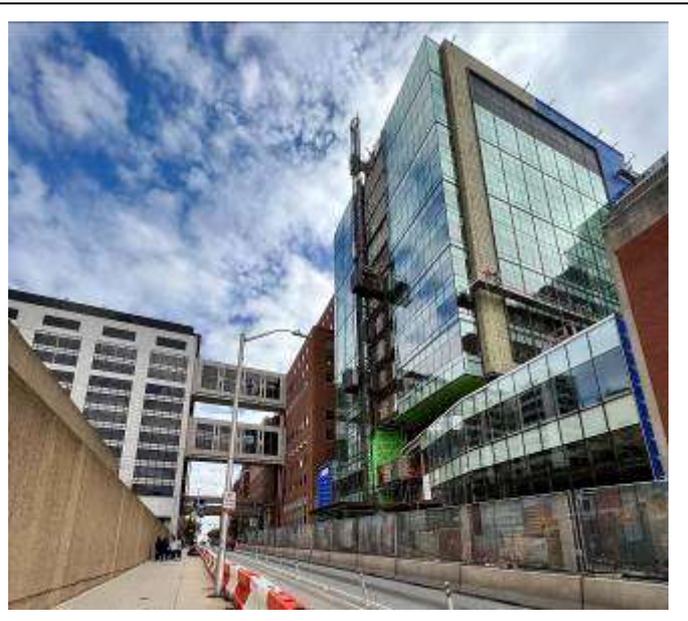
約翰霍普金斯醫院癌症大樓門診中心



第一癌症研究大樓窗外的風景可看見門診大樓及癌症大樓門診中心



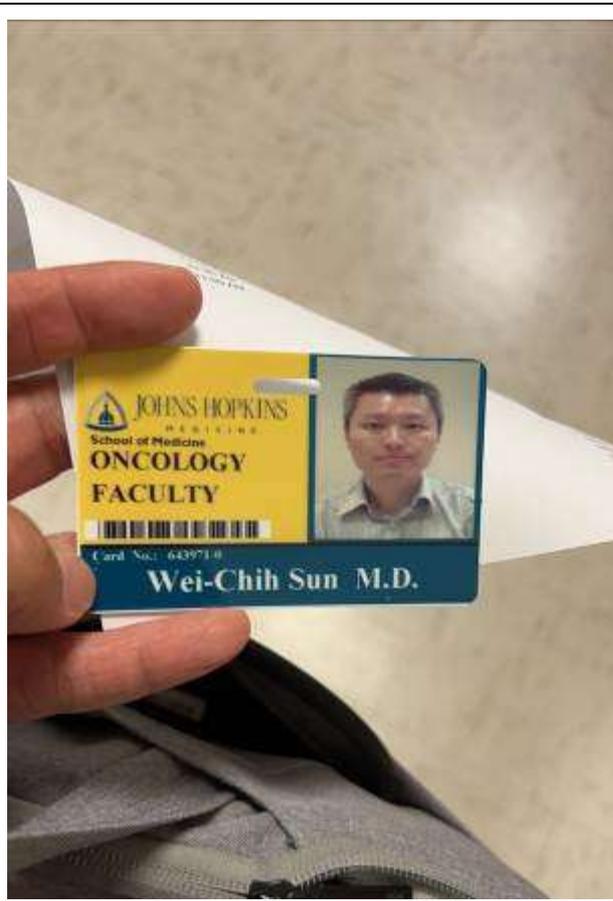
第二癌症研究大樓



心血管中心旁正在興建中的醫療大樓



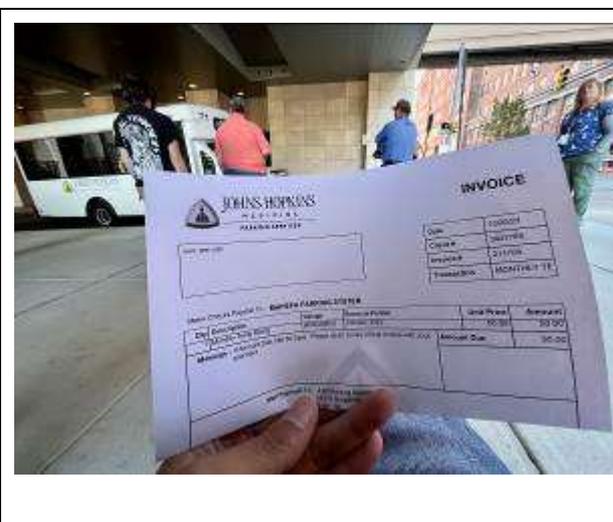
第一天報到最重要的事，申請識別證及辦理停車



憑識別證才可進出醫院、實驗室、停車場



每天要開車通勤到醫院附近的停車場停車，再轉搭乘接駁車到醫院





簡單舒適的個人座位



實驗室個人的工作檯



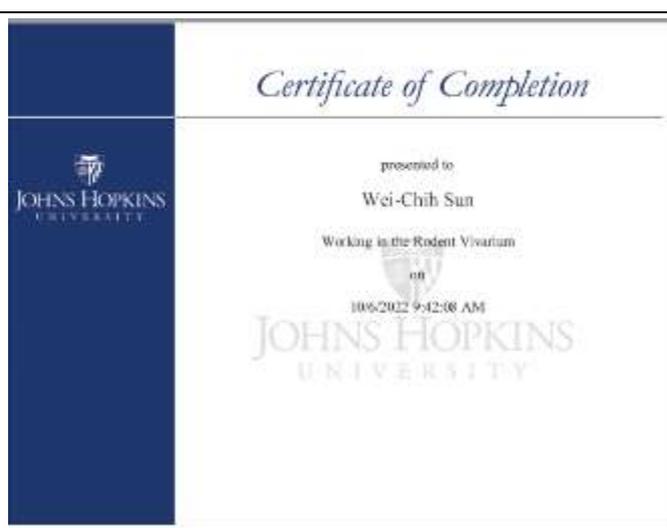
實驗室同事的個人工作檯



實驗室做細胞計數的地方

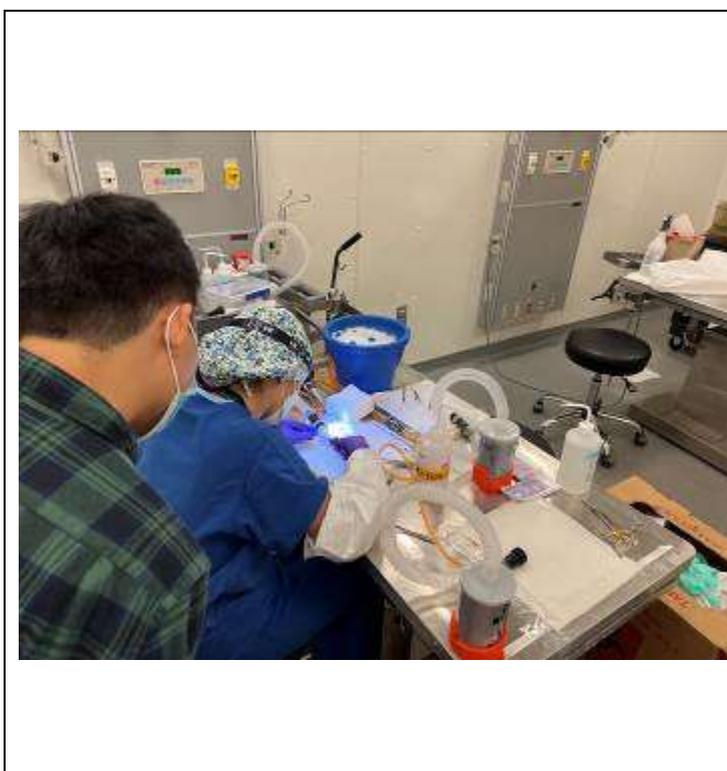


取得動物實驗課程認證

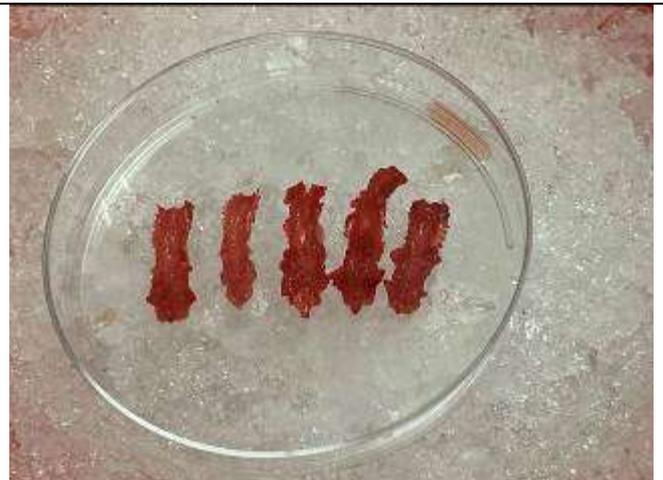




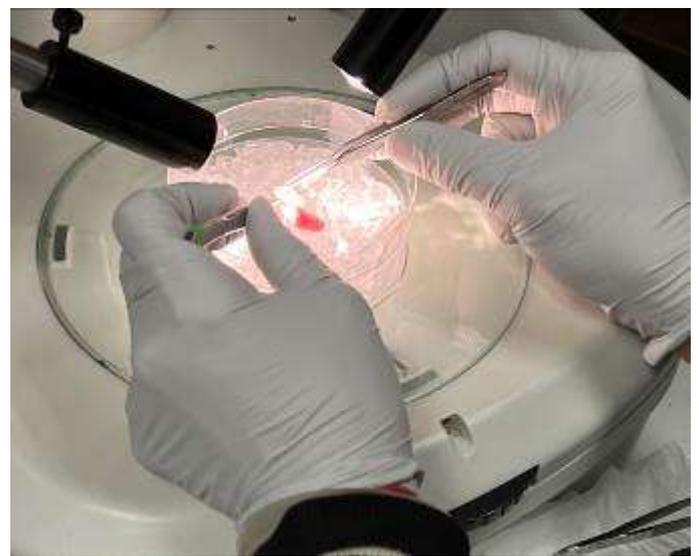
完成動物實驗房的實地環境操作注意事項介紹後取得進出動物房權限



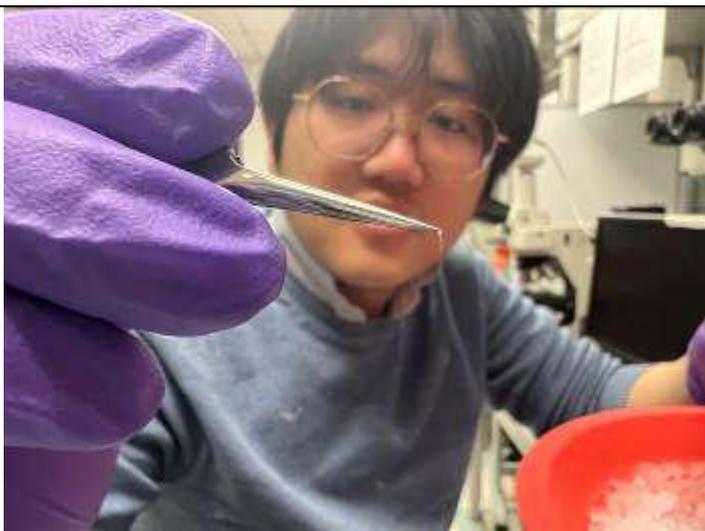
來觀摩學習如何建立胰臟癌肝及肺轉移的動物模組



未滿一周大的小鼠，取出其脊髓



該操作技術需在顯微鏡下操作



需耗費時間精力取得脊髓背根神經節，之後還須培養觀察是否成功生長



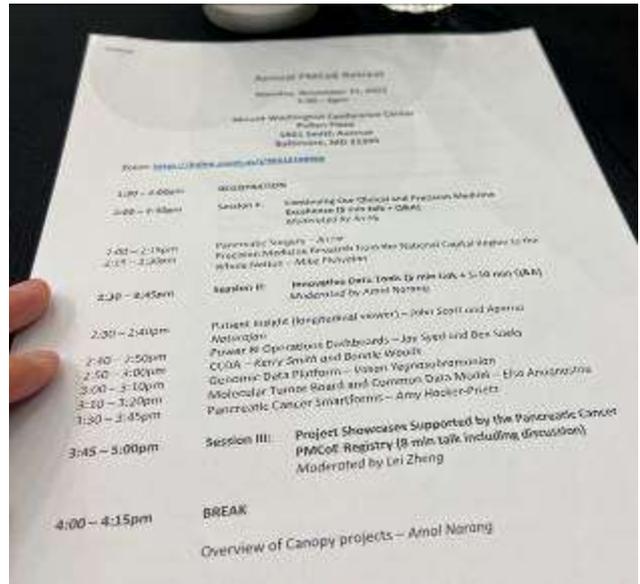
來參加約翰霍普金斯醫院內視鏡研討會，巧遇台灣來的醫師



與有名的內視鏡大師 Mouen A Khashab 合影



與我的另一位指導內視鏡醫師 Eun J. Shin 合影



參加指導老師 Lei Zheng 教授所舉辦的胰臟癌精準醫療多專科團隊年度回顧討論會



### Toward the development of a mouse model of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

Hector Hdzarz, Wei-Chih Sun, Maciej Jurek, Sophie Chen, Julie Pochla, Lei Zheng  
Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, Maryland, USA

---

BACKGROUND	RESULTS	CONCLUSION
<p style="font-size: x-small;">Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDA) accounts for 80% of Pancreatic Cancer and has a 5-year survival of ~5%. Pancreatic Isletlet is highly cellular in PDA and a marker of poor prognosis and high mortality. Smad3, an anti-oncogene gene product, is associated with right- vs. left-sided PDA. The study of the progression of PDA by investigating associations in Smad3 expression may help define new targets of PDA treatment.</p> <p style="font-size: x-small;">Fig. 1 Pancreatic Isletlet is a cellular PDA. It is characterized by high cellular density and isletlet structure. The isletlet is highly cellular in PDA and a marker of poor prognosis and high mortality. Smad3, an anti-oncogene gene product, is associated with right- vs. left-sided PDA. The study of the progression of PDA by investigating associations in Smad3 expression may help define new targets of PDA treatment.</p>	<p style="font-size: x-small;">Fig. 2 Smad3 expression suppresses PDA tumor growth in vivo.</p> <p style="font-size: x-small;">Fig. 3 PDA Isletlet is a cellular PDA. It is characterized by high cellular density and isletlet structure. The isletlet is highly cellular in PDA and a marker of poor prognosis and high mortality. Smad3, an anti-oncogene gene product, is associated with right- vs. left-sided PDA. The study of the progression of PDA by investigating associations in Smad3 expression may help define new targets of PDA treatment.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PDA Isletlet is a cellular PDA. It is characterized by high cellular density and isletlet structure. The isletlet is highly cellular in PDA and a marker of poor prognosis and high mortality. Smad3, an anti-oncogene gene product, is associated with right- vs. left-sided PDA. The study of the progression of PDA by investigating associations in Smad3 expression may help define new targets of PDA treatment.</li> <li>• PDA Isletlet is a cellular PDA. It is characterized by high cellular density and isletlet structure. The isletlet is highly cellular in PDA and a marker of poor prognosis and high mortality. Smad3, an anti-oncogene gene product, is associated with right- vs. left-sided PDA. The study of the progression of PDA by investigating associations in Smad3 expression may help define new targets of PDA treatment.</li> </ul>
<p style="font-size: x-small;">Fig. 4 PDA Isletlet is a cellular PDA. It is characterized by high cellular density and isletlet structure. The isletlet is highly cellular in PDA and a marker of poor prognosis and high mortality. Smad3, an anti-oncogene gene product, is associated with right- vs. left-sided PDA. The study of the progression of PDA by investigating associations in Smad3 expression may help define new targets of PDA treatment.</p>	<p style="font-size: x-small;">Fig. 5 PDA Isletlet is a cellular PDA. It is characterized by high cellular density and isletlet structure. The isletlet is highly cellular in PDA and a marker of poor prognosis and high mortality. Smad3, an anti-oncogene gene product, is associated with right- vs. left-sided PDA. The study of the progression of PDA by investigating associations in Smad3 expression may help define new targets of PDA treatment.</p>	<p style="font-size: x-small;">Fig. 6 PDA Isletlet is a cellular PDA. It is characterized by high cellular density and isletlet structure. The isletlet is highly cellular in PDA and a marker of poor prognosis and high mortality. Smad3, an anti-oncogene gene product, is associated with right- vs. left-sided PDA. The study of the progression of PDA by investigating associations in Smad3 expression may help define new targets of PDA treatment.</p>
<p style="font-size: x-small;">Fig. 7 PDA Isletlet is a cellular PDA. It is characterized by high cellular density and isletlet structure. The isletlet is highly cellular in PDA and a marker of poor prognosis and high mortality. Smad3, an anti-oncogene gene product, is associated with right- vs. left-sided PDA. The study of the progression of PDA by investigating associations in Smad3 expression may help define new targets of PDA treatment.</p>	<p style="font-size: x-small;">Fig. 8 PDA Isletlet is a cellular PDA. It is characterized by high cellular density and isletlet structure. The isletlet is highly cellular in PDA and a marker of poor prognosis and high mortality. Smad3, an anti-oncogene gene product, is associated with right- vs. left-sided PDA. The study of the progression of PDA by investigating associations in Smad3 expression may help define new targets of PDA treatment.</p>	<p style="font-size: x-small;">Fig. 9 PDA Isletlet is a cellular PDA. It is characterized by high cellular density and isletlet structure. The isletlet is highly cellular in PDA and a marker of poor prognosis and high mortality. Smad3, an anti-oncogene gene product, is associated with right- vs. left-sided PDA. The study of the progression of PDA by investigating associations in Smad3 expression may help define new targets of PDA treatment.</p>

---

**STUDY OBJECTIVE**

To develop a mouse model of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma for the study of isletlet structure and progression of anti-oncogene genes in cancer metastasis.

**METHODS**

Timeline of PDA Mouse Model

**FUTURE DIRECTIONS**

- Smad3 expression will continue to investigate if progression is associated with isletlet structure.
- The study of anti-oncogene gene products will be investigated for their potential role in the overall model of anti-oncogene.
- PDA Isletlet will be pursued to investigate possible TMC changes.

---

**REFERENCES**

- Jurek, Maciej B., et al. "Xenograft models of pancreatic ductal adenocarcinoma: a review of current models and future directions." *Journal of Experimental Medicine* 2013.
- Sun, Wei-Chih, et al. "Smad3 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma isletlet structure." *Journal of Experimental Medicine* 2013.
- Zheng, Lei, et al. "Smad3 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma isletlet structure." *Journal of Experimental Medicine* 2013.

**REFERENCES**

- Sun, Wei-Chih, et al. "Smad3 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma isletlet structure." *Journal of Experimental Medicine* 2013.
- Zheng, Lei, et al. "Smad3 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma isletlet structure." *Journal of Experimental Medicine* 2013.

協助醫學生 Hector 於約翰霍普金斯大學醫學院學術研討會共同發表會議論文

21





Lei Zheng 教授為我舉辦了一場歡送晚宴，結束了我這趟珍貴難忘的美國進修之旅