

Number 15, 2012.01.01.



臺灣大學「發育生物學與再生醫學研究中心」電子報
Research Center for Developmental Biology and
Regenerative Medicine Newsletter

中心網頁： <http://homepage.ntu.edu.tw/~ntucdbrm622/>

中心主任：楊偉勛 教授
榮譽主任：鍾正明 院士

總編輯：謝豐舟教授
副總編輯：吳益群教授
編輯顧問：孫以瀚研究員、邱英明教授

編輯幹事：陳敏慧教授、徐善慧教授、謝武勳副教授、
黃彥華副教授、李士傑副教授、黃敏銓副教授、
丁照棣副教授、陳信孚副教授、曹伯年助理教授、
王弘毅助理教授、劉逸軒助理教授、陳佑宗助理教授、
林頌然助理教授、林泰元助理教授、楊宗霖助理教授、
鄭乃禎醫師、鄭暉騰醫師、陳沛隆醫師、顏伶汝副研究員

美編製作：劉麗芳
發行日期：2012年 01月 01 日

本次主題

1. 活動預告

(1) 2012.01.08

結節硬化症醫療照護研討會

(2) 2012.01.11-專題演講

台大醫院基因醫學部/胡務亮主任

2. 活動花絮

2011 .12.09

年終發育生物學與再生醫學研究海報研討會暨謝豐舟教授歡送茶會

3. Genetics in Stem Cell; From Discovery to Therapy

洪楨邦^{1,2} 黃永鑫^{1,2} 陳一心^{2,3}

¹台大基因體醫學研究中心

²台大醫學院臨床基因醫學研究所

³台大醫學院臨床醫學研究所

4. 2011年11月25日

調控式基因轉殖或剔除動物研究之討論研究

5. 2011年11月30日 -演講摘要

Prostate Epithelial Progenitors and Cancer

攝護腺上皮前驅細胞與攝護腺癌

陳俊銘副教授/國立陽明大學生命科學系暨基因體研究所

活動預告：

結節硬化症醫療照護研討會

Conference on Tuberous Sclerosis Complex (TSC) Patient Care

時間：中華民國 101 年 1 月 8 日（星期日）上午九點至下午五點十分

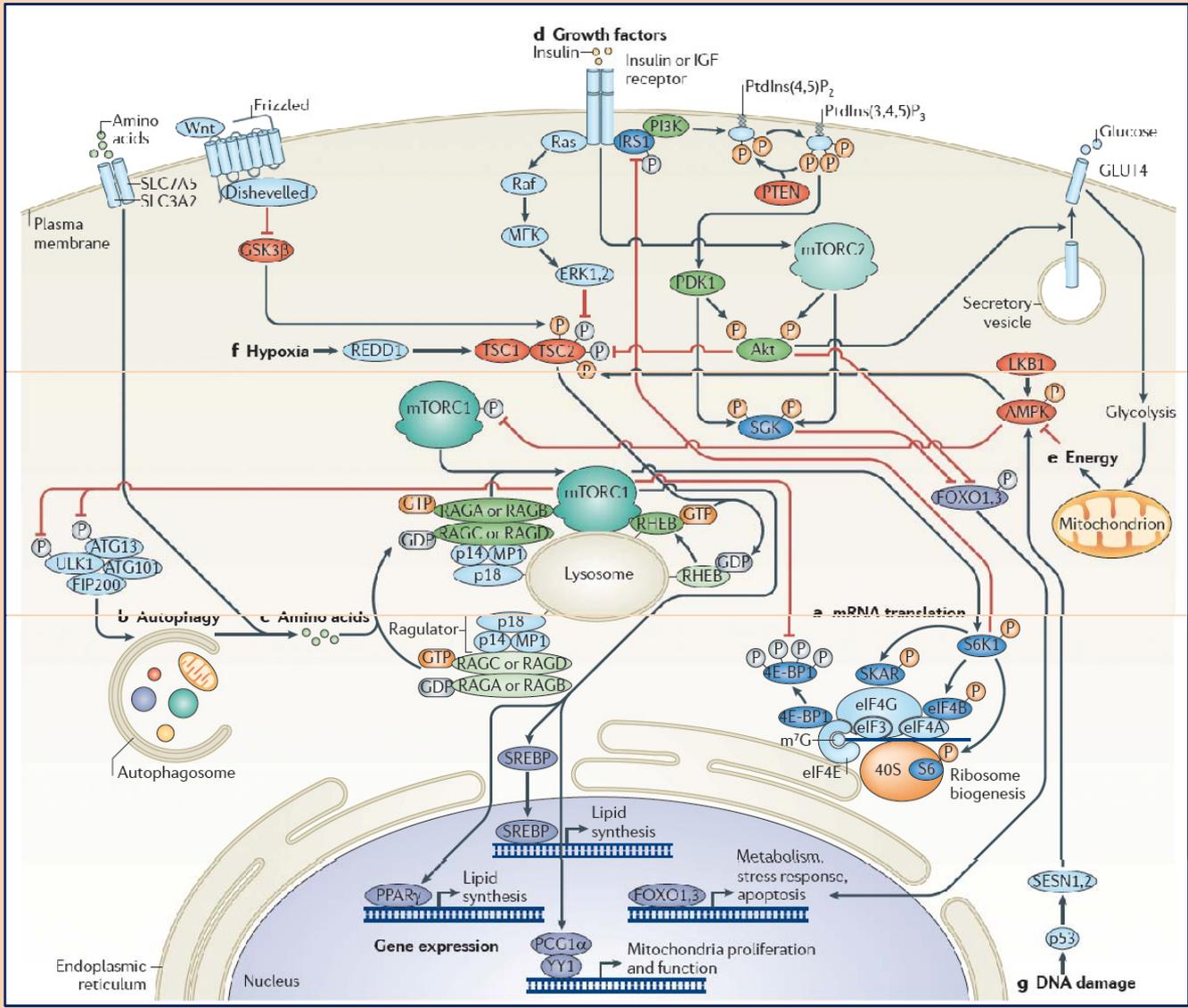
地點：台大醫院兒童醫療大樓地下一樓 B1 會議廳

主辦單位：台大醫院基因醫學部

協辦單位：台灣結節硬化症協會、台灣大學發育生物學與再生醫學研究中心、台灣小兒神經醫學會

mTOR (mammalian target of rapamycin) pathway 是近年來最受注目的研究領域之一，它位處於一個複雜網路的樞紐位置（如圖一），細胞可以透過此一信號傳導路徑來整合能量、營養、壓力以及生長因子的信號，而往下游影響細胞的生長與分裂，也因此最近幾年來，不論是癌症、老化、生長及糖尿病等研究，都愈來愈重視 **mTOR pathway** 的角色。

針對複雜的生物系統之研究，要想有適當的疾病模型來做為切入點，往往是可遇不可求。然而，我們現在知道結節硬化症（**Tuberous Sclerosis Complex, TSC**）正是 **mTOR pathway** 失衡造成的疾病！結節硬化症目前已知的兩個基因（**TSC1**以及**TSC2**），是 **mTOR pathway** 裡頭的煞車系統（如圖一），當**TSC1**或**TSC2**失去功能時，**mTOR pathway** 會過度活化，而在全身許多器官造成腫瘤或是其他病變。不同家族的不同**TSC1**或**TSC2**突變點位，及其與多樣性臨床表現之間的關聯，無疑可以提供對於**mTOR pathway** 之基礎研究的許多線索以及素材。



圖一：mTOR pathway 以及 TSC1/TSC2 之角色。(本圖來自mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2011 Jan;12(1):21-35.)

結節硬化症是一個臨床表現非常多變的重要疾病，身體的許多器官（包括腦部、腎臟、肺部、心臟、眼睛、牙齒、皮膚、指甲等）都可能長出結節或其他病變，但即使是同一家族而帶有同一突變點位，不同成員的臨床表現也可能會有相當的差異。多器官的影響以及高變異性的表現，往往造成病人就醫以及醫療人員診治的重大挑戰。

本次研討會（議程如下頁）將同時針對臨床治療以及基礎研究之重要課題進行探討。在臨床上我們有台大醫院TSC 整合型門診所有科部的醫療團隊人員進行報告，也有台灣其他醫師的經驗分享。在橫跨基礎與臨床研究方面，我們很高興邀請到 **Dr. David Neal Franz**（他是 2010 年 *Everolimus for subependymal giant-cell astrocytomas in tuberous sclerosis. N Engl J Med. 2010 Nov 4;363(19):1801-11.* 的通訊作者）以及 **Dr. Hongbing Zhang**（他是最早做出 *TSC1 KO mice* 並進行研究的人）。而在研討會中，我們更高興能請到謝豐舟教授進行演講，台大醫院結節硬化症整合型門診是謝教授一手催生出來的，在 TSC 這個疾病上，他看到了病友以及醫療人員對於整合型醫療的需求，他也看到了將臨床表現與基礎研究結合的龐大潛力。

本次研討會將於2012年1月8日（星期日）上午9時至下午5時10分舉行，地點是台大醫院兒醫大樓地下一樓B1視聽講堂，全日活動皆為免費，並提供中午餐盒。非常歡迎所有對於 TSC 和 *mTOR pathway* 有興趣之臨床以及基礎研究人員一同參加並進行交流。請透過以下網站

（<http://intmed.mc.ntu.edu.tw/xms/content/show.php?id=15342>）進行報名。

若有任何疑問，請透過 E-mail

（tsc20120108conference@gmail.com）與我們聯絡。謝謝。

Time: January 8, 2012 (Sunday)

Place: NTUH Children's Hospital, B1 Lecture Hall (Basement Level 1)

Time	Topic	Speaker	Moderator
09:00 - 09:20	Registration		
09:20 - 09:25	Opening remarks	Dr. 陳明豐	
09:25 - 09:30	Welcome remarks	Dr. 吳美環	
09:30 - 09:40	The Joint TSC Clinics at NTUH - Overview	Dr. 胡務亮	Dr. 吳美環
09:40 - 09:50	The Joint TSC Clinics at NTUH - Pulmonology	Dr. 王鶴健	
09:50 - 10:00	The Joint TSC Clinics at NTUH - Urology/Nephrology	Dr. 王碩盟	
10:00 - 10:10	The Joint TSC Clinics at NTUH - Ophthalmology	Dr. 蔡紫薰	
10:10 - 10:20	The Joint TSC Clinics at NTUH - Cardiology	Dr. 陳俊安	
10:20 - 10:30	The Joint TSC Clinics at NTUH - Dentistry	Dr. 陳信銘	
10:30 - 10:55	Coffee Break / Media Conference -----	-----	
10:55 - 11:10	A long journey leading to the TSC Clinics at NTUH	Dr. 謝豐舟	Dr. 胡務亮
11:10 - 11:20	Taiwan TSC Association - Past, Present and Future	Mr. 施逸民	
11:20 - 12:10	State-of-the-art TSC Research and Treatment	Dr. D.N. Franz	
12:10 - 13:20	Lunch / TSC Patient Video =====	=====	
13:20 - 14:00	TSC1/2 Suppression of mTOR and Targeted Therapies for TSC	Dr. H.B. Zhang	Dr. 王輝雄
14:00 - 14:20	Dietary Therapy for Epilepsy in Children with TSC	Dr. 王輝雄	
14:20 - 14:40	Ladybug Integrated Clinics for TSC Care, the New Model and Clinical Review	Dr. 蔡政道	
14:40 - 15:00	TSC patient associations - the U.S. and international experience	Ms. K. Smith	
15:00 - 15:10	Taiwan TSC Patient Presentation	Ms. 謝淑玲	
15:10 - 15:30	Coffee Break -----	-----	
15:30 - 15:40	The Joint TSC Clinics at NTUH - Neurology	Dr. 范碧娟	Dr. 劉宏輝
15:40 - 15:50	The Joint TSC Clinics at NTUH - Rehabilitation	Dr. 盧璐	
15:50 - 16:00	The Joint TSC Clinics at NTUH - Psychology	Ms. 鄭逸如	
16:00 - 16:10	The Joint TSC Clinics at NTUH - Counseling	Ms. 黃愛珠	
16:10 - 16:20	The Joint TSC Clinics at NTUH - Dermatology	Dr. 廖怡華	
16:20 - 16:30	The Joint TSC Clinics at NTUH - Genetics	Dr. 陳沛隆	
16:30 - 17:00	Panel discussion (all speakers)	Dr. 劉宏輝	
17:00 - 17:05	Closing remarks	Dr. 劉宏輝	5

活動預告：

演講人：胡務亮教授

**台大醫院基因醫學部主任
台大學小兒科教授**



主 題：

**Motor developments after correcting congenital
deficiency of neurotransmitters**

**時 間： 2012年01月11日，星期三，
12:30-1:30pm**

地 點： 台大醫學院202教室

研究專長：

- 1.小兒科學**
- 2.遺傳學**
- 3.分子生物學**
- 4.新陳代謝學**

活動預告：

謝豐舟教授回顧展3D導覽

歡迎上線參觀!!!!

<http://www.mc.ntu.edu.tw/alualu/3D.htm>



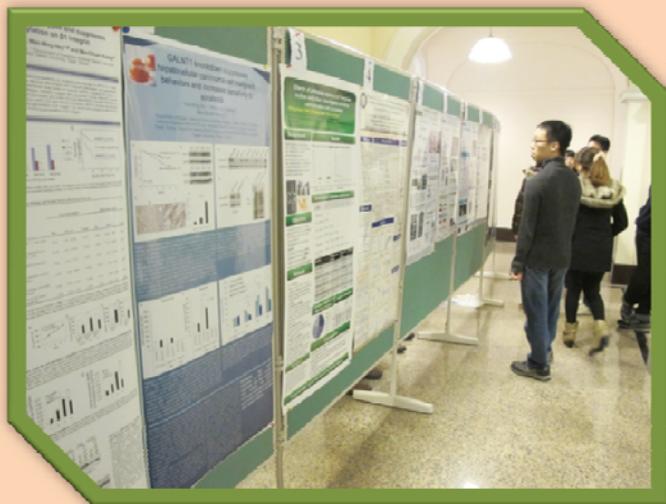
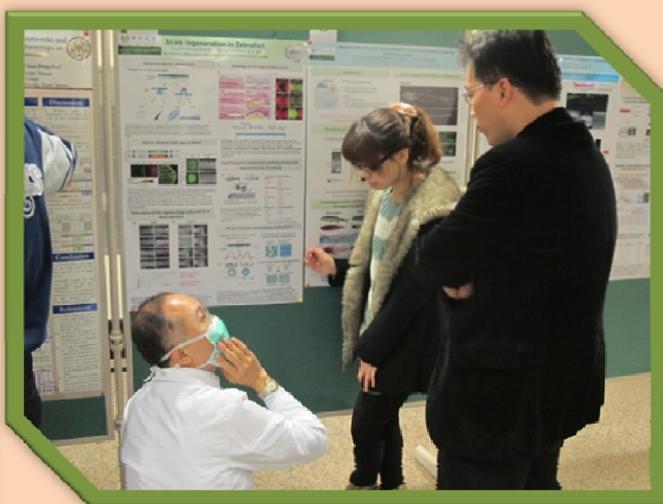
活動花絮:

年終發育生物學與再生醫學研究海報研討會

暨謝豐舟教授歡送茶會

時間:2011年 12月09日

地點:台大醫學院人文館



對於海報內容討論熱烈

活動花絮:海報得獎者

財團法人謝伯潛醫學教育基金會獎

得獎人:台大醫學院解剖所 博班 周志行

β -1,4-galactosyltransferase III enhances malignant phenotypes and suppresses neuronal differentiation by modifying glycosylation on β 1 integrin

Hsiu-Hao Chang^{1,4*}, Chia-Hua Chen^{1*}, Chih-Hsing Chou², Fon-Jou Hsieh³, Wen-Ming Hsu^{1,4#} and Min-Chuan Huang^{1#}

^{1,2}*Graduate Institute of Anatomy and Cell Biology, National Taiwan University College of Medicine,*
^{1,4}*Department of Pediatrics, National Taiwan University Hospital,*

³*Center for Develomental Biology and Regenerative Medicine, National Taiwan University, Taipei, Taiwan*

The role of glycosyltransferases in neural tumorigenesis and differentiation is unknown. Here we reported a galactosyltransferase β -1,4-galactosyltransferase III (B4GALT3), which efficiently catalyzes the synthesis of the first N-acetyllactosamine unit. In order to investigate the role of B4GALT3 in neuronal differentiation and malignant phenotypes, we overexpressed B4GALT3 in human SH-SY5Y cells. After retinoic acid induced neuronal differentiation, B4GALT3 transfectants expressed lower levels of neuronal markers, including β III-tubulin, α -internexin, and NF-H, compared with mock transfectants. Following overexpression of B4GALT3 enhanced cell adhesion, migration invasion and suppressed neurite outgrowth induced by serum starvation on collagen IV, fibronectin, and laminin, which suggests that B4GALT3 may promote malignant phenotypes and inhibit neuronal differentiation through interaction of extracellular matrix proteins and their receptors. Furthermore, lectin pull-down assays using *Lycopersicon Esculentum Lectin* (LEL) and *Ricinus communis I* (RCA I) showed that different glycosylation patterns of β 1 integrin between B4GALT3 and mock transfectants, indicating that B4GALT3 can modify glycosylation of β 1 integrin. Our results demonstrate for the first time that B4GALT3 enhances malignant phenotypes and inhibits neurite outgrowth and neuronal differentiation through modifying glycosylation on β 1 integrin.

活動花絮:海報得獎者

發育再生中心榮譽主任鍾正明院士獎 得獎人:中央研究院 分生所博班 簡瑜

Cyp11a1 Overexpression in Transgenic mice Leads to Mis-regulated Progesterone Production and Pregnancy Failure

Yu Chien^{1,2}, Wei-Cheng Cheng, Bon-chu Chung^{1,2}

中央研究院分子生物所 簡瑜 程偉政 鍾邦柱

¹ Institute of Molecular Biology, Academia Sinica, Nankang, Taipei 115, Taiwan

² Department of Biochemistry and Molecular Biology, National Yang-Ming University

The *CYP11A1* gene encodes the P450_{scc}, which catalyzes the first step in steroid biosynthesis. *CYP11A1* overexpression is associated with predisposition to breast cancer, endometrial cancer and polycystic ovary syndrome. Some of these patients also suffer from pregnancy problem. To characterize the obstetric and gynecological defects caused by *Cyp11a1* overexpression, we generate *Cyp11a1* transgenic mice using a mouse bacterial artificial chromosome that recapitulates the endogenous expression of *Cyp11a1* gene. We found that the transgenic females had elevated estradiol (E2) levels at metestrus and diestrus and more cell death of corpora lutea at diestrus. The mural granulosa cells possessed more mitotic ratios in preovulatory follicles of transgenic mice. *Cyp11a1* transgenic females displayed reduced pregnancy rate, decreased litter size *in utero*, delayed parturition and no live birth. Less serum progesterone (P4) was produced from transgenic females during early pregnancy. The progesterone level returned to normal afterwards, but its withdrawal at term was delayed. Insufficient progesterone in *Cyp11a1* transgenic females could not support normal implantation and placentation at the correct time, leading to more absorption of embryos. The luteal cells of transgenic ovaries appeared foamy and accumulated numerous lipid droplets in the cytoplasm during early pregnancy. The expressions of genes related to steroidogenesis and cholesterol homeostasis in transgenic ovaries were diminished during maturation process of corpora lutea. Prostaglandin E2 signaling was raised for preventing cell death of transgenic corpora lutea at immature stage. Taken these findings together, we conclude that overexpression of *Cyp11a1* disrupts the normal development of corpus luteum then leads to progesterone insufficiency during early pregnancy. Therefore *Cyp11a1* transgenic females can serve as a disease model of recurrent pregnancy failure.

活動花絮:海報得獎者

發育再生中心主任楊偉勛教授獎

得獎人:台大化學所博班 陳奕丞

Noise filtering in coherent feedforward networks and its effect on an incomplete penetrant phenotype in *Caenorhabditis elegans* development

Yi-Chen Chen^{1,2}, Yi-Chun Wu³, Chun-Yi David Lu¹, Chao-Ping Hsu²

¹ Department of Chemistry, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

² Institute of Chemistry, Academia Sinica, Taipei, Taiwan

³ Institute of Molecular and Cellular Biology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

Gene expression noise is ubiquitous in cells. In the development of multicellular organisms, a genetic regulatory network must be able to cope with the fluctuations in the gene expression level so that a final phenotype is nearly the same in different individuals. However, not much is known about the mechanisms that may result in the fluctuations at the gene expression level in multicellular organisms and how the fluctuations may be buffered in a way that leads to a ubiquitous output in different individuals. In the present work, we study the effect of gene expression fluctuations on the timing control of cell migration in the wild-type and mutant individuals of the model organism *C. elegans*. Specifically, we examine a pair of somatic cells termed distal tip cells (DTCs), which guide the migration direction of the gonadal arms during larval development. Previous molecular and genetic data have established a network that consists of multiple interlinked feedforward loops required for the timing control of DTC ventral to dorsal turning at the third larval stage. Mutations in the hub of this genetic network cause an incomplete penetrant turning defect, despite the fact that mutants were of an identical genetic background and grew under the same condition. To see whether the noise filtering capacity might be disrupted in these mutants, we create a dynamic model, in which we randomly introduce noisy spikes into the OFF or ON state of the input signals, regulators of the network, and simulate the output signal, a downstream effector of the network. In addition, we have determined a Boolean logic in the genetic network according to the noise filtering effect to reproduce experimental phenotype variations. We find that the simulated results fit well to most of the experimentally observed phenotypes. We demonstrate that each incomplete penetrant phenotype observed in mutants can be attributed to a specific noisy input. Our results suggest that noises in the input signals at the gene expression level can contribute to an incomplete penetrant mutant phenotype in the timing of cell migration in a population.

活動花絮:



財團法人謝伯潛醫學教育基金會獎

得獎人:台大醫學院解剖所 博班 周志行



發育再生中心榮譽主任鍾正明院士獎

得獎人:中央研究院 分生所博班 簡瑜



發育再生中心主任楊偉勛教授獎

得獎人:台大化學所博班 陳奕丞

活動花絮：

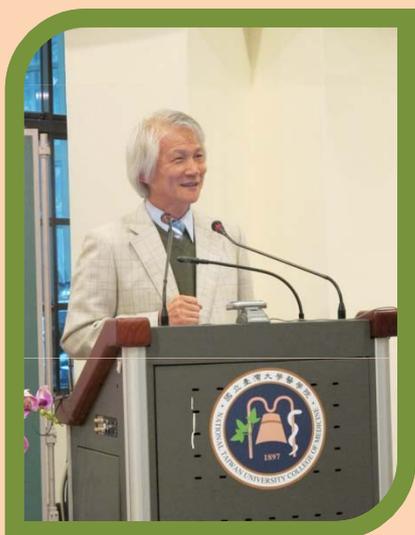
謝豐舟教授歡送茶會



楊偉勛教授主持



杜永光教授



胡海國教授



蕭水銀教授



蔡世峰教授



葉素玲教授

活動花絮:



左:陳炯年教授
右:李建南醫師



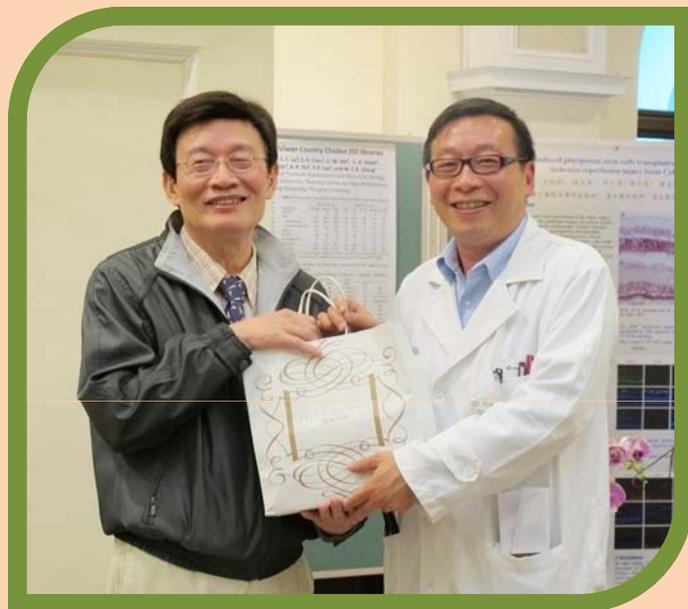
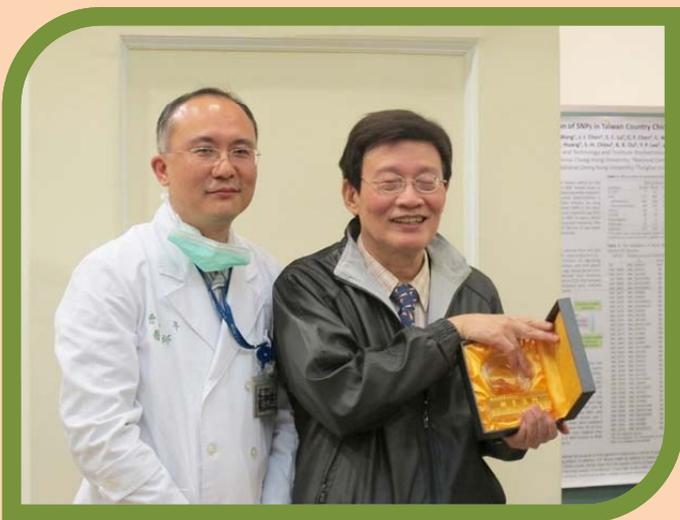
左:徐明光醫師
右:丁照棟老師



左:孫維仁教授
右:鄭文芳教授

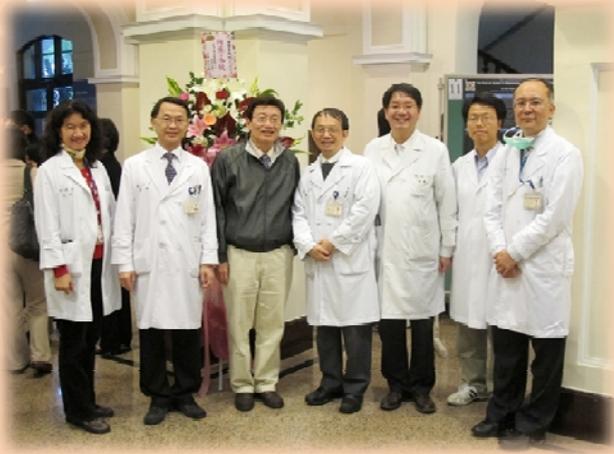


活動花絮:

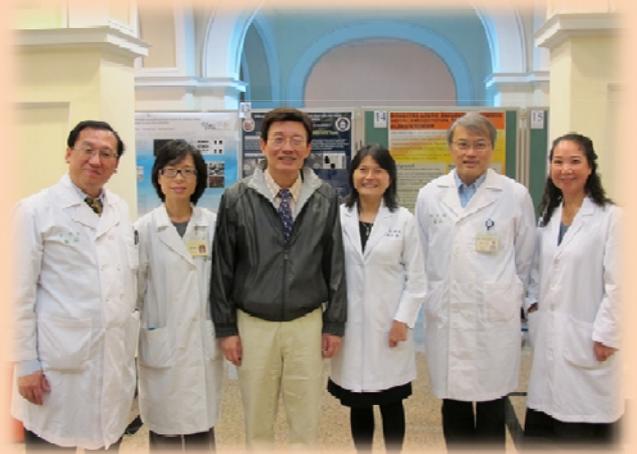
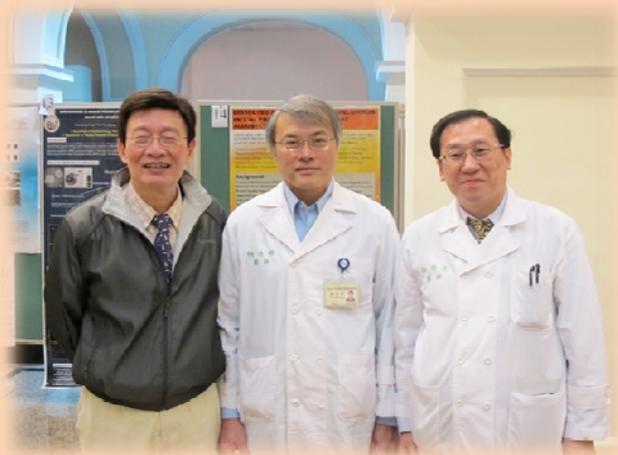
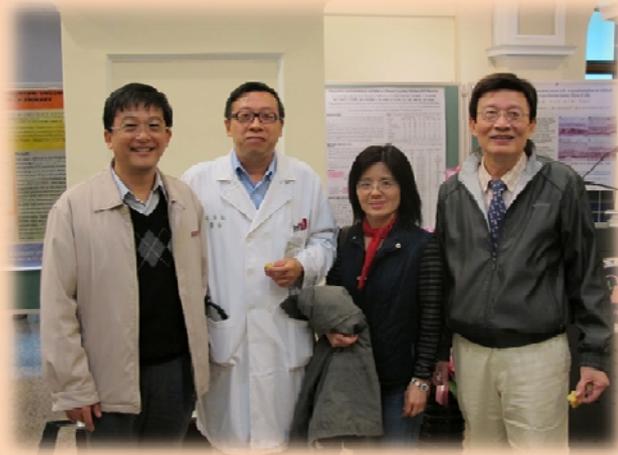


贈送禮物給這位台大傳奇經典人物-謝豐舟教授

活動花絮:



活動花絮:



活動花絮:



左: 來自奧地利鋼琴家-劉美貞
右: 陳弘觀-藥理學博班

活動花絮:



這些年輕學子們想對您訴說：感謝您**40**年載 無私的付出



Genetics in Stem Cell; From Discovery to Therapy

洪楨邦^{1,2} 黃永鑫^{1,2} 陳一心^{2,3}

¹ 台大基因體醫學研究中心

² 台大醫學院臨床基因醫學研究所

³ 台大醫學院臨床醫學研究所

Allan Bradley博士師承2007年諾貝爾獎得主 **Sir Martin Evans**，是胚胎幹細胞與基因工程領域的世界級領導人物，對幹細胞研究的發展貢獻卓越，有許多新的生物技術由他所創立或改良，他不僅曾任全世界最大之基因體中心**The Wellcome Trust Sanger Institute**的執行長 (2000-2010)，目前也是英國皇家科學院的院士。

Allan Bradley博士首先提到在24年內已經製作出超過6000隻的基因剔除(**Knockout**)小鼠，而這些小鼠提供了非常多的訊息，但是一次剔除一個老鼠的基因就是一個漫長的過程，要探知基因的功能需要更長久的時間。因此，**Allan Bradley**博士以小鼠胚胎幹細胞為材料來研究基因功能，並巧妙地利用**bloom(Blm) deficient**的方法來作功能性隱性基因篩選。

(1)利用Blm-deficient小鼠胚胎幹細胞:

研究人員遇到最大的困難點在於，由於一個基因的兩個等位基因都有功能，如果只剔除或突變其中某一基因，另外一個基因仍然會有功能，因此無法拿來模擬此基因全剔除的情形。那麼，要如何在小鼠胚胎幹細胞剔除兩個等位基因呢？或者是說要如何得到同源剔除的胚胎幹細胞？Allan Bradley博士有Blm-deficient小鼠胚胎幹細胞，此種小鼠胚胎幹細胞和野生型(Wide Type)比較，Blm-deficient胚胎幹細胞具有較高的有絲分裂重組發生率，一旦發生有絲分裂重組，其子代細胞就有可能有基因由異型合子變成同型合子。舉例來說，當研究人員剔除兩等位基因之某一等位基因，因此形成異型合子，若是要等待野生型胚胎幹細胞從只帶一突變等位基因的異型合子，變成兩等位基因都帶突變的同型合子，自然發生的機率極低，約莫為 10^{-5} ，但Blm-deficient胚胎幹細胞卻可以提高20倍的有絲分裂重組發生率，變成同型合子的機率為五千分之一，因此大大提高變成由異型合子同型合子的機會。

(2)突變形成(Mutagenesis):

為了製造突變來研究基因功能，研究人員應用基因誘補載體(gene trapping vector)，來產生突變形成:

(a) 反轉錄病毒(retrovirus)

為反轉錄病毒，可辨認特定序列，並將特定序列中的DNA片段插入染色體中，以DNA mismatch repair screen的例子來說，藉由反轉錄病毒插入的DNA片段並經過6-TG篩選後，並利用上述Blm-deficiency的概念，可得到同型合子的突變株，經過進一步分析後，發現Msh6和Dnmt1基因與DNA mismatch repair有關；然而retrovirus由於有插入位置的熱區，因此造成惟有特定區域的基因會被插入並產生突變，使得研究人員無法得到非插入熱區的基因訊息，為了解決此問題，Allan Bradley博士引進了第二種突變型成方法: PiggyBac transposase。

(b) PiggyBac轉位酶(transposase):

PiggyBac DNA 轉位酶使用”複製及貼上”的方式插入DNA片段(跳躍子, **transposon**)，其好處在於**PiggyBac**轉位酶並沒有插入的熱區，因此可以隨機的插入染色體中，同時使插入片段跳出後，並不會在染色體留下任何DNA，因此不會造成DNA **frameshift**。同樣以DNA **mismatch repair**篩選為例，經6-TG篩選後，除**Msh6**可得到同型合子突變株之外，亦可以得到**Msh2, Mlh1, Pms2**的同型合子突變株(失去功能)，也就是說，比用反轉錄病毒多找到**Msh2, Mlh1, Pms2**基因也參與在DNA **mismatch repair**。總而言之，**PiggyBac DNA**轉位酶是一個產生突變形成(的合適工具)。

Allan Bradley亦介紹如何用基因標的(**gene targeting**)的方法，來矯正帶有基因突變的多能幹細胞(**iPS**)。**Allan Bradley**博士挑選了自體隱性遺傳的 **α 1-antitrypsin deficiency**這個疾病來作為矯正的對象， **α 1-antitrypsin deficiency**是歐洲發生率最高的肝臟遺傳性疾病之一，致病原因中常見的是 **α 1-antitrypsin gene**有一個點突變(**Glu342Lys**)，會使製造出來的蛋白形成多聚體而堆積在肝臟細胞的內質網中，進一步造成肝纖維化。由於是自體隱性遺傳疾病，也就是兩個等位基因都帶有突變，因此要治療就必需要將兩個等位基因都矯治。

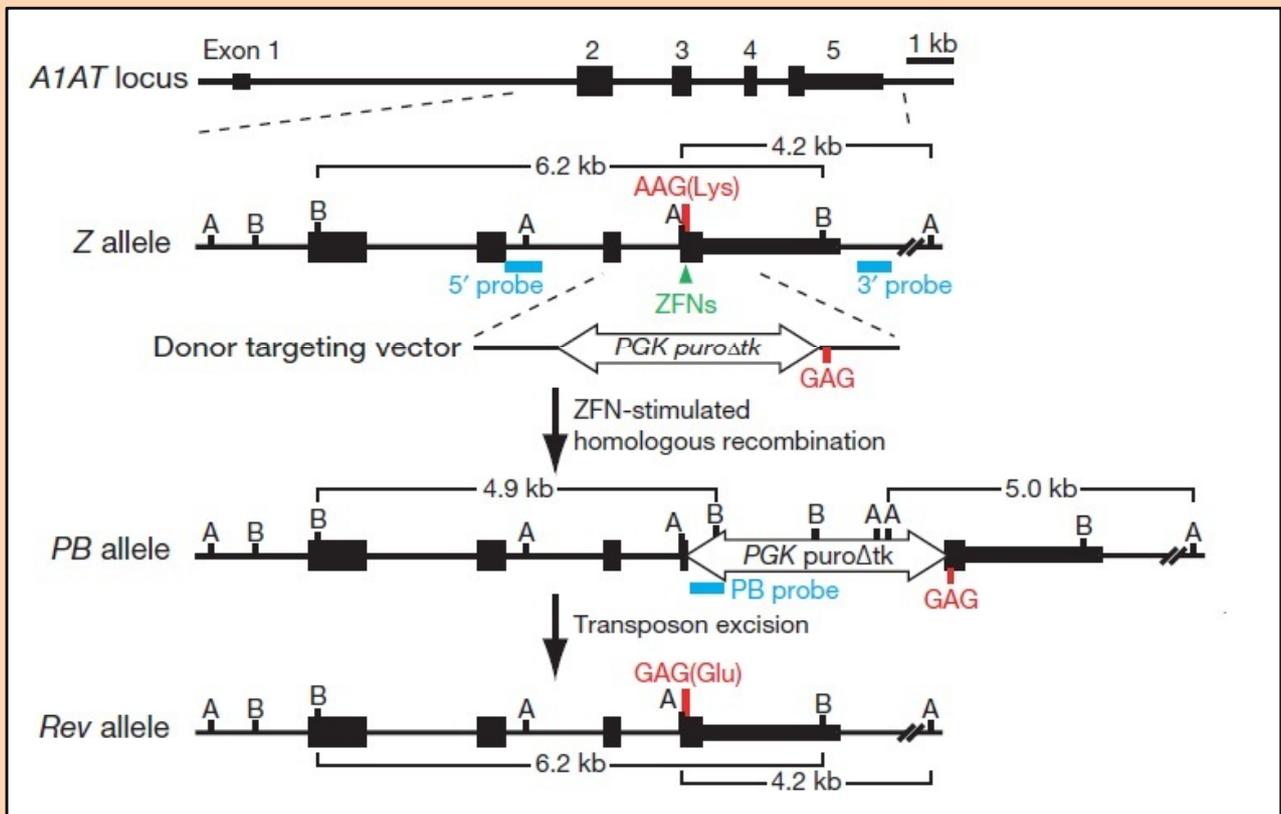
整體的策略是將帶點突變的體細胞再程序化(**reprogramming**)後形成多能幹細胞，矯正突變後，在體外分化成帶正常功能的體細胞，再進一步移植回病人的肝臟，以達到治療的目的。這個過程很關鍵的步驟是要矯治兩個等位基因，但過程中會遇到兩個問題：第一點，要矯正點突變，可以用同源置換(**homologous recombination**)的方法置換入正常基因，但效率不是很高；第二，同源置換的基因需插入一段抗藥基因才能做篩選，但是插入抗藥基因卻會有外來基因的疑慮。

對此，**Allan Bradley**博士採用鋅指核酸酶（**Zinc Finger Nuclease, ZFN**）的技術來高效率且準確地達成兩個等位基因的同源置換(見圖1.)，至於插入抗藥基因的問題，**Allan Bradley**博士很巧妙地在同源置換基因中擺入[TTAA<跳躍子帶有藥物篩選基因>TTAA](TTAA是指核酸序列，是跳躍子靠轉位酶跳入及跳出時辨認的序列)，使得成功藥物篩選後，可以將整個抗藥基因不留痕跡地跳出，只留下原本的TTAA的序列。非常聰明的一點是，**Allan Bradley**博士將這個留下的TTAA序列的位置，選擇在對這個基因而言是沉默突變的地方，也就是不會造成胺基酸的改變。還有一個問題是，由於是同時矯治兩個等位基因，因此兩個等位基因上的藥物篩選基因也必需都跳出才行，因此必需想辦法提高跳出的效率，而現在**Allan Bradley**博士也已經有了高功能性的轉位酶(**PiggyBac transposase**)來達成此一目的。

按照上述方法，**Allan Bradley**博士成功地做出矯治成功的多能幹細胞，並且證明這樣子的多能幹細胞在分化成似肝臟細胞時，是有功能，而且已經不會有多聚體的產生。在安全性的方面，**Allan Bradley**博士發現在再程序化(**reprogramming**)、鋅指核酸酶(**ZFN**)作用以及跳躍子跳出時，各可能造成少數的基因突變，但他認為在仔細挑選之後，可以找到突變最少，且突變位置皆不重要的細胞株，這樣子就有機會安全地用在病人身上。



左至右：
洪楨邦、黃永鑫、
陳一心



(圖1. 節錄自 Yusa K, Rashid ST, Strick-Marchand H, et al. Targeted gene correction of alpha1-antitrypsin deficiency in induced pluripotent stem cells. *Nature* (2011), 478: pp. 391-394.)

調控式基因轉殖或剔除動物研究之討論研究

曹伯年醫師 台大新生兒科

會議開始，高惠陽教授先簡介基因轉殖或剔除鼠的發展和近期常用的調控式雙重或三重基因轉殖剔除鼠，同時也介紹他們最近發現一個眼睛有獨特表現的promoter,目前他們已經利用這個promoter製造出knockin的轉殖鼠，目前正在釐清這隻基因轉殖鼠promoter所表現的時間以及組織部位。

接著，劉家揚副教授介紹他發現，若把眼角膜上皮的Rbpjk (Notch訊息)會導致眼角膜goblet cell無法發育，同時他也做了單獨剔除Notch1 一個receptor也發現有相同的角膜表現型，這表示眼角膜goblet cell的調控確實和Notch訊息相關，這和臨床上的乾眼症很像，目前正在釐清其致病基轉。



2011年11月25日 左至右
林淑華教授、劉家揚副教授、高惠陽教授

再來，林淑華老師以及她的團隊，先分享她在利用基因轉殖鼠和基因剔除鼠做研究的心得，同時也藉此告訴大家利用基因轉殖鼠和基因剔除鼠辛苦的地方。另外，林老師和游博士也藉此來跟大家介紹臺大基因轉殖轉殖鼠中心，至今已成功製造出許多的基因轉殖及基因剔除鼠，可以說是一個很有效率的技術支援中心，也歡迎大家繼續支持利用。

之後，陳佑宗老師先稍微介紹一下自己在基因轉殖方面的經驗，也告訴大家他可以提供有關小鼠體內細胞源系追蹤的工具，包括最近與林淑華老師的團隊合作完成的雙色報導基因轉殖鼠。這隻轉殖鼠的細胞核會發綠螢光，而細胞膜會發櫻桃紅螢光，此外櫻桃紅螢光也可以在一些胞器中表現，因此，可以被用來追蹤細胞及胞器，是一個非常有用的工具鼠。

最後，曹醫師先利用肺臟內胚層獨特性**Notch**訊息剔除鼠，發現若在肺臟發育前就失去**Notch**訊息，那呼吸道上皮的**Clara cell**就無法發育，因而，使得整個呼吸道缺乏**Clara cell**而導致整個呼吸道佈滿了纖毛上皮。除了調控呼吸道上皮的分化，另外，在出生後**Notch**訊息會被用來維持呼吸道上皮**Clara cell**的恆定，若出生後長期缺乏**Notch**訊息會導致**Clara cell**過度分化變成**goblet cell**，這和臨床上氣喘或慢性肺疾病的病理變化很像。

會議中大家有許多互動，並分享了各自在調控式基因轉殖或剔除鼠的經驗，希望藉這次的經驗分享，可以讓大家對如何利用調控式基因轉殖或剔除鼠來進行研究更得心應手，若有需要，也可以相互合作以增進研究的深度。

**Ben and Louis Tate Chair Professor,
Ophthalmology Director,
Crawley Vision Research Center Member,
All University Graduate Faculty at
University of Cincinnati**



高惠陽教授



劉家揚副教授

**Department of Ophthalmology,
College of Medicine,
University of Cincinnati**



2011年11月25日-圓桌討論會議

Prostate Epithelial Progenitors and Cancer

攝護腺上皮前驅細胞與攝護腺癌



陽明大學 陳俊銘副教授
國立陽明大學生命科學系暨基因體研究所

攝護腺位於膀胱頸下方，為一錐形外分泌腺體組織。在開發中國家的癌症發生率中攝護腺癌高居第二位，男性癌症死亡率位居第三。在臺灣攝護腺癌的發生率則占第五位。攝護腺主要由三種細胞所構成：基底上皮細胞(**basal epithelial cells**)、柱狀上皮細胞 (**luminal epithelial cells**)、神經內分泌細胞 (**neuroendocrine cells**)。過去依據人類攝護腺癌病理切片及動物實驗的結果，普遍認為柱狀上皮細胞為攝護腺腫瘤的來源。然而近年來許多研究指出，基底上皮細胞亦具有能力產生與臨床攝護腺癌相似的腫瘤。直至目前，攝護腺癌的“起源性細胞”仍是一個十分重要的議題。

本實驗室旨在探討活體中攝護腺的不同細胞族群，何者為攝護腺癌之起源細胞，並針對不同抑癌基因進行遺傳修飾，以探討該抑癌基因對攝護腺癌化過程的重要性。*PTEN* (*Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10*) 為相當重要的抑癌基因，位於人類染色體10q23位置，其功能為去除PIP3 D3位置之磷酸根，藉此抑制PI3K/AKT的訊息傳遞。許多研究指出，攝護腺癌常伴隨*PTEN*基因的突變或缺失，顯示*PTEN*在攝護腺癌當中扮演重要的角色。此外隨著近期研究已知，*Wnt*訊息所調控的下游基因，和癌症發生或幹細胞增生分裂具有高相關性。在癌細胞內之*Wnt*訊息傳遞異常活化，多半都是由於APC或是β-catenin等基因發生突變，進而異常活化TCF所形成的轉錄因子，導致細胞不正常的分化及分裂。在許多細胞實驗中已證實，PI3K/AKT訊息傳遞和*Wnt*/β-catenin訊息傳遞間彼此交互影響，能共同調控細胞的恆定性。

為了瞭解小鼠攝護腺兩種細胞族群中，失衡的PI3K/AKT和APC/β-catenin訊息產生不正常的傳遞路徑，是否影響攝護腺癌的發生。首先，本實驗室建立：*Tg(BK5-CreER^T)*和*Tg(K18-EGFP,K8-CreER^T)*轉殖基因鼠。這兩種基因轉殖鼠分別以第五角質蛋白及第八角質蛋白基因啟動子驅使Cre-ER^T(重組酶-突變型雌激素受體融合基因)在攝護腺主要的兩種細胞族群(基底上皮細胞及柱狀上皮細胞)中表現。接著利用上述的基因轉殖鼠，建立誘導式基因剔除鼠 *Tg (BK5-CreER^T) ;Pten^{fx/fx}* 及 *Tg(K18-EGFP,K8-CreER^T) ; Pten^{fx/fx}*，分別在基底上皮細胞及柱狀上皮細胞中剔除*Pten*。在先前的研究成果中，我們發現由基底上皮細胞失去*Pten*所導致的癌症發生所需時間較短，並且有較高機率形成侵略性癌症。有趣的是，兩種基因剔除鼠所產生的癌症，都具有臨床中所觀察到的“柱狀上皮”增生的特徵。此結果顯示，基底上皮細胞於癌症發生過成中具有分化成柱狀上皮細胞的能力，形成腫瘤性柱狀上皮病灶。並也證明活體生物中基底上皮細胞亦能為攝護腺癌之來源細胞。

對於**Pten**訊息傳遞在柱狀及基底上皮細胞中可能的角色有基本的瞭解後，更進一步，本實驗室目前著手于深入探討此兩種細胞族群中**PI3K/AKT**和**APC/ β -catenin**訊息迴路之間的交互作用。我們建立了分別在攝護腺柱狀上皮細胞及基底細胞同時剔除**Pten**及 **β -catenin**的小鼠，欲探討 **β -catenin**缺失後，是否影響**Pten**缺失所產生的癌化過程。初步的結果顯示，在基底上皮細胞同時剔除**Pten**及 **β -catenin**，則**Pten**缺失導致癌化的過程會被抑制，目前正進行分子機制的研究。希望本實驗室所建立的**Pten**和**APC**誘導式基因剔除小鼠模式，在未來能探究攝護腺癌化過程中所參與的調控機制，並提供一個發展抑癌藥物治療的動物模式平台。

(致謝:此研究主要計劃經費來源:國衛院與國科會)



2011年11月30日-陳俊銘老師演講