

知識天地

淺談二組與疾病相關的研究

李玉梅副研究員（生物化學研究所）

Part I. Glypican-3 與肝癌致癌性之關係

肝細胞癌是亞洲及非洲常見的癌症。在臺灣肝癌是排名第一的癌症，早期診斷早期治療是很重要的課題。Glypican-3 最初在 1995 年由加拿大 Filmus 團隊 Simpson-Golabi-Behmel overgrowth 症候群被報導，臺大醫院許輝吉教授實驗室利用功能性分析實驗發現 glypican-3 (GPC3)，在 74.8% 的肝細胞癌有過量表現，有助早期肝癌病理的診斷，顯示其與肝癌的發生有相關性。

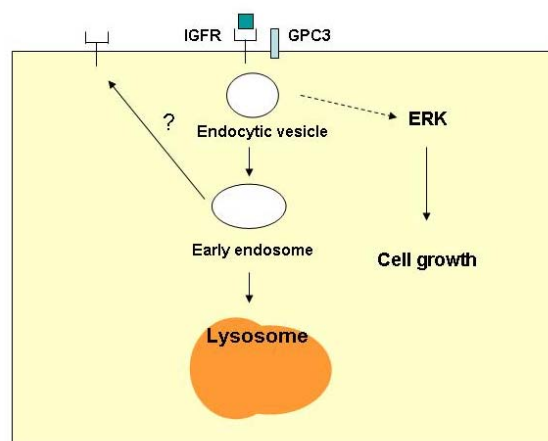
Glypican 屬於 heparan sulfate proteoglycan 的一員，主要的功能是扮演一些肝素結合蛋白（heparin-binding proteins）的協同受體（coreceptor），這些肝素結合蛋白包括某些生長激素，細胞外間質因子，及細胞接合受體（receptors）。GPC3 結構是膜蛋白，過去則曾被報導參與 Wnt 途徑。

本研究室數年來一直致力於研究 GPC3 與致癌的可能性與致病機轉，但是根據文獻，它幫助乳癌細胞死亡！這與我們的猜測不同（當然這也增加我們後來投稿的困難度），在分析他們的實驗設計時，發現他們所使用的質體 plasmid N 端有變異，我們使用完好的 GPC3 質體，發現 GPC3 會促進細胞生長且具致癌性（tumorigenesis），它的過度表現可以促進肝細胞株的生長，反之，小干擾 RNA（siRNA）則抑制肝細胞株的生長。

如何發揮促進腫瘤的功能呢？在探討機轉的時候，我們意外發現它可以協同提高類胰島素生長因子受體（Insulin-like growth factor receptor）的訊息傳遞，我們發現 GPC3 的角色類似類胰島素生長因子受體（IGF-1R）的協同受體，它可以促進 ERK 蛋白激酶，在我們所使用的數種肝癌細胞都有類似情形。非常特別的是在無血清培養的細胞，它就可以活化此路徑，這是非常奇特的發現，深究下去，我們發現原來肝癌與許多其他細胞本身可以表現類胰島素生長因子。那麼，為什麼 GPC3 可以幫助 IGFR？又如何促進細胞生長呢？是否是藉由 heparan sulfate 黏著微量 IGF 送交給它受體，的確，我們發現 GPC3 可以與 IGFR 與 IGF 交互作用，也就是說，GPC3 是 IGF-1R 的協同受體！IGF-1R 目前並無已知的協同受體，我們是全球第一篇提到 GPC3 與此路徑的相關性（見附圖一）。

話說回來，其實，先前 Filmus 的質體設計，雖然有些微誤差，這也成為後來我們的一條重大線索，因為我們將 N 端進行突變，將 Proline 改變為 alanine 的確在一些功能上，包括 IGFR 與 ERK 活化都喪失。

我們最後確認 IGF 使肝細胞株生長受到影響，在使用 IGF 小干擾 RNA 時，的確細胞生長受到影響。由於 GPC3 是膜蛋白，又是 oncofetoprotein，它對於類胰島素生長因子途徑（IGF axis）的影響，對肝癌的治療，提供一個可能的方向。未來我們希望可以建立它的單株抗體，希望可以提供一個幫助診斷與治療的工具。



Part II 肌肉張力不全相關的轉譯臨床研究

人類遺傳疾病，從基因層面來說，可以由於單一基因引起的疾病，如舞蹈症，一些代謝症候群；或複合基因所引起如高血壓，精神分裂症、第 2 型糖尿病等等。單一基因引起的疾病常常具有較高的親人罹病機率，或高遺傳力，也常常對社會具重大影響，例如對於造成家庭及社會的沉重負擔、或是醫療照護成本較高。

肌肉張力不全目前有 12 型，其中找到致病基因的，只有二型，我們探討的是多巴安反應型肌肉張力不全症。它的決定基因是 GCH，GCH 是一種酵素，基因突變時，產生的臨床症狀，類似巴金森氏症。在治療方面，使用低劑量多巴安可以完全緩解症狀。幾年前，臺大醫院胡務亮醫師在臺灣發現第一例病人，在確認病人的基因突變後，我們開始合作展開致病機轉的探討。

我們利用功能性分析實驗發現幾個 GCH 的調節因子，找到 Hsp70, RNF4, BEC1 分別列述於後。我們探討的第一個調節因子是 Hsp70，我們證明它的確有助於突變的 GCH 折疊，但是即使 Hsp70 有助於 GCH 折疊，卻無法恢復 GCH 酵素活力，可能因為 GCH 折疊複雜度較高，因此須要其他因子幫助。此外 Hsp70 的家庭成員 Hsp90，對於正常 GCH 蛋白質的折疊也有非常重要的幫助。後來，我們探討另一家庭成員 Hsp27 對於 GCH 的影響。我們利用細胞模式，發現磷酸化的 Hsp27 對於突變的 GCH 折疊有幫助，我們再應用於舞蹈症細胞模式，發現磷酸化的 Hsp27 對於舞蹈症基因突變造成的不正常折疊也有幫助，這結果很令人興奮，表示未來許多由於基因突變，造成蛋白質不正常折疊導致的疾病，提供一個可以控制的工具。

我們研究的第二個調節 GCH 的因子是 RNF4，它是 Zn finger 蛋白質，它本身可以非專一性結合 DNA，我們則進一步發現它可以與轉錄因子 NF-Y 協同促進 GCH 的基因活化。有趣的是，RNF4 後來也被其他實驗室報導可以幫助不正常折疊蛋白質的崩解。

第三個調節 GCH 的因子是 BEC1，它是一個全新的因子，它具有 YTH 區塊 (domain)，RNA 或 DNA 結合能力不清楚，因此分外有挑戰性與困難度，我們研究室在這部分花許多人力與時間。BEC1 可以促進 E1A 剪接 (splicing) 模式 9S 表現，而在 tropomyosin 剪接模式中，BEC1 促進肌肉組織特異型表現。此外它在細胞質與細胞核來回穿梭，而且似乎是藉由磷酸化調節，這部分如何調控，蛋白激酶是什麼，都有待未來釐清。我們也發現它促進 GCH 轉譯功能，調節方式乃是藉由 GCH RNA 3' 端區域進行，我們也定義出控制序列，未來，我們將全面探討它的標的基因，在剪接，轉譯的調節對細胞的影響（以上這些調節子對於 GCH 的影響，見附圖二）。後續一提的是，當年這位小孩，目前已經大學畢業，是位亭亭玉立的美少女了。

