

出國報告(出國類別：進修)

建立第十六型人類乳突病毒(HPV16)  
E6/E7 自發性持續表現的腫瘤動物模型用  
以評估藥物的治療效果

服務機關：三軍總醫院

姓名職稱：林宜欣、資深住院醫師

派赴國家：美國

出國期間：101年7月09日至105年7月6日

報告日期：105年9月20日

## 摘要

人類乳突病毒目前已經發現超過 200 型，其中高危險型，例如第十六、十八型又與許多惡性腫瘤有關聯，包括口腔、鼻咽、子宮頸、與肛門直腸腫瘤。已知慢性病毒感染為致癌過程的重要因素，而目前對於腫瘤形成之後的治療雖然有一定的標準流程，對於慢性的病毒感染卻還沒有有效控制治療的方法。本人為三軍總醫院婦產部資深住院醫師，非常榮幸獲得國防部補助於民國 101 年至 105 年至美國約翰霍普金斯大學醫學院病理生物所進行博士進修。進修期間於指導教授 Dr. T.-C. Wu 及 Dr. Chien-Fu Hung 教導下模擬人類乳突病毒第十六型慢性感染，建立產生自發性腫瘤的動物模型，並將模型用以研究藥物治療成效，與未來在腫瘤轉移分子機轉的研究提供一定程度之幫助。

## 目次

封面.....	第 0 頁
摘要.....	第 1 頁
目次.....	第 2 頁
內文.....	第 3-5 頁
目的.....	第 3 頁
過程.....	第 4-6 頁
心得與建議.....	第 6-8 頁

# 本文

## 目的

人類乳突病毒是一群 DNA 病毒，目前已經被發現的超過 200 型。其中高危險型已知與許多惡性腫瘤的形成有關，包括頭頸部口腔、子宮頸、與肛門直腸腫瘤。病毒誘發惡性腫瘤的機轉，與慢性感染有直接關係。目前在子宮頸癌的預防上，雖然有完整的篩檢標準步驟可以進行，在治療上也有準則可以依循。但是對於早期篩檢之後呈現人類乳突病毒感染陽性的病人卻沒有有效的治療方法。感染的病人一方面承受定期追蹤內診的不便，一方面對於感染何時轉陰性，會不會變化為惡性腫瘤的不確定性，心裡跟生理都有極大壓力，常常因為內診的壓力直接放棄追蹤錯失早期治療的時機。預防性人類乳突病毒疫苗除了有施打年齡決定保護效果的限制，另一方面在治療感染上仍無用武之地。因此，如果能夠建立一個模擬人類乳突病毒感染產生自發性腫瘤的模型，不僅僅可以用於研究病毒感染導致癌症的分子機轉、腫瘤微環境(Tumor microenvironment)、免疫環境…更可以用於研發控制感染、抑制腫瘤的治療方法。過去的乳突病毒感染模型，受限於無法重現病毒專一的表皮細胞特性。傳統的動物模型，腫瘤細胞移植模型缺點為無法重現腫瘤微環境，使用轉機因老鼠，全身性的乳突病毒癌基因 (HPV oncogene E6/E7) 引起的免疫反應完全不同於局部產生的惡性腫瘤。本人進修過程，以注射高危險性乳突病毒癌基因(HPV16 E6/E7)，與合併其他輔助癌基因，產生自發性腫瘤來模擬病毒感染並產生自發性腫瘤的小鼠模型為研究主軸，並彙整實驗結果撰寫博士論文及後續文章發表。希望此研究成果能對慢性感染致癌機轉與免疫治療控制病毒感染的應用有進一步的瞭解，並能將所學貢獻於教學、研究及臨床病人服務。

## 過程

### 第一年學習目標

- (1) 博士班核心課程：與醫學院所有系所的博士生一同修習核心課程與針對系上博士生個別開設的課共計 12 門，包括基礎病理學、進階病理學、大分子結構分析 (Macromolecular Structure and Analysis)、分子生物與遺傳學 (Molecular Biology and Genetics)、基礎遺傳學 (Fundamental of Genetics)、細胞結構與動力學 (Cell structure and Dynamics)、分子路徑與調節 (Pathways and Regulation)、高等免疫學 (Graduate Immunology)、生物資訊 (Computational Biology and Bioinformatics)…….。密集的大堂修課與考試是第一年最重要的工作。
- (2) 訓練及熟悉實驗所需用到的技巧及儀器操作：選擇系上至少三個老師的實驗室，每一個實驗室為期至少 10 週的實習時間，執行小型研究計畫，將課堂上學到的實驗技術動手實作，學習判讀論文圖表、如何製作論文圖表。學習融入不同環境，並從中選取一位老師為指導教授。這一年參與了三位霍普金斯醫學院婦科病理老師的實驗室，包括 Dr. Ie-Ming Shih 以研究卵巢癌分子機轉為主，Dr. Richard Roden 以研發新一代人類乳突病毒疫苗為主，最後選擇 Dr. T.-C. Wu 為指導教授，以人類乳突病毒相關癌症的免疫治療研究為主題。

### 第二年學習目標

- (1) 博士候選人資格考：修習完第一年醫學院核心課程之後，在第二年上半年就能參加資格考口試，口試之後正式加入指導教授實驗室開始論文計畫。
- (2) 完成至少一門選修課的要求。
- (3) 擬定論文主題，開始實驗。

### 第二年學習成果

- (1) 通過資格考取得博士候選人資格。初步的論文主題為研究蛋白酶體抑制劑

(proteasome inhibitor) 於癌症動物模型治療的效果。

- (2) 將實驗結果彙整，製作海報參與霍普金斯病理部研究所年度退休會(Annual Pathobiology Graduate Program Retreat )，題目為: Immunogenic antigens facilitate tumor control after chemotherapy.

### 第三年學習目標

- (1) 系上必修課：研究計畫撰寫(Grant Writing)，另外必須完成至少一門選修課。
- (2) 集中於論文計畫的實驗進行。

### 第三年學習成果

因第二年初步規劃的論文主題沒有明確進展，在經過一段長時間的錯誤與修正之後仍然無法獲得滿意的結果。至此與指導教授討論改變論文研究主題，嘗試藉由黏膜注射高危險乳突病毒致癌基因合併其他致癌基因，利用睡美人轉位子系統 (Sleeping Beauty transposon system) 剪下插入的特性將致癌基因插入小鼠染色體來模擬乳突病毒感染後的分子機轉。

實驗結果顯示致癌基因的注射能成功導致局部自發性惡性腫瘤形成。這些形成的腫瘤具備部分臨床腫瘤特性。另外結果亦顯示腫瘤形成須早期短暫免疫抑制 T 細胞。

### 第四年學習目標

完成至少一門選修課。最後一年研究重心為彙整所有研究成果及實驗數據，並詳加整理以利論文撰寫。期間並將重要成果撰寫為文章並投稿至醫學期刊。

### 第四年學習成果

- (1) 統整之研究結果，已完成論文寫作，文章投稿也已進入最後編修階段，等待指導教授修改完成即可投稿。

- (2) 將實驗結果彙整，製作海報分別參與霍普金斯病理部研究所年度退休會 (Annual Pathobiology Graduate Program Retreat )與病理部年輕學者年度研討會(Annual Department Of Pathology Young Investigators' Day)，題目為: Generation of a Spontaneous HPV-16 E6/E7 Expressing Pre-clinical Tumor Model for Therapeutic Intervention.

## 心得與建議

此次赴美國進修四年，期間除課程研習及實驗操作外，觀察國外環境及諸多人、事、物均帶來許多不同感受，最難得的是有相對充足的時間陪伴小孩家人，這是以往臨床工作絕對無法擁有的。以下僅擷取其中幾項重要心得，並列舉針對軍醫單位、國家未來送訓及派送出國進修人員建議事項如下：

### 1. 外語能力

雖然有通過申請學校對語文能力的要求規定，然而實際到達國外開始課程進修時仍然深感英文能力的不足，尤其在學習抽象的新知識備感吃力。建議有計畫出國進修的人員，應盡最大努力增強外語能力，在國外時時把握與人交流的機會，可以縮短語言適應期。

### 2. 研究學程時間的規劃

國防部規定全時進修期限為四年，但本人就讀的博士班整整第一年都用在課堂學習核心課程，指導老師也只能在三個實驗室實習完作決定，真正作實驗從第二年開始，一般平均畢業需要至少五年，雖然可以在決定實驗室之前跟國外指導教授充分說明進修時間有限的情況，以挑選合適的主題作為研究題目，增加如期完成學業的機會，但只有四年時間實在非常匆促，對於養成博士生獨立思考、實驗設計、解決錯誤並學習是非常不利的。這樣條件下的學習變得非常目的性，只求論文計畫絕對有結果、能畢業就好，培養出來的研究人員回國後有

很大的風險無法在嚴苛的學術環境生存。

### 3. 尊重個體，強調獨立及批判性思考(Critical thinking)

在國外求學，博士的養成過程中，強調獨立思考的能力。審視論文的時候，不論是實驗設計、文章邏輯的漏洞、實驗結果的可信度…每個學生都需要表達自己的想法，彼此也都能尊重個別的想法。這是以往在台灣的教育下，尤其在軍事單位強調絕對服從所欠缺的。尊重個體意見讓思考變得多元性，強調獨立思考與批判性思考尤其在這爆炸資訊的時代，有助於選擇正確有用的訊息，這些其實都是國內教育可以改善的地方。

### 4. 未來研究方向及臨床應用

此次進修主題主要在建立人類乳突病毒自發性惡性腫瘤模型，模擬慢性病毒感染導致口腔或子宮頸陰道癌症，並評估免疫治療的成效。未來除了導入更多免疫治療的研究，也可以用於評估感染後局部的免疫環境。另外此模型的局部淋巴轉移也可以用於癌症轉移的分子研究。

## 致謝

此次能有機會赴國外進修，要特別感謝國防部軍醫局的大力補助才有可能成行，在此特別表達無限的謝意。另外對於醫院及學院各位長官及師長持續的栽培與支持，亦在此表達深深的謝意。最後希望能將自己所學貢獻於未來教學、研究及臨床服務上，更期能對婦科癌症臨床及基礎研究有所助益。

約翰霍普金斯醫院的四季

春



夏



秋



冬 (ref: <http://mapio.net/o/1193551/>)

