

出國報告(出國類別：進修)

英國博士學位進修心得報告
探討棕櫚酸誘發之代謝失衡之分子
機制及可能之治療方法

服務機關:國防醫學院

姓名、職稱:簡宏哲 講師

派赴國家/地區：英國/諾丁漢

出國期間：105 年 9 月 28 日 109 年至 8 月 23 日

報告日期：109 年 9 月 15 日

摘要

許多證據顯示體內長期游離脂肪酸濃度的上升會導致代謝失衡而影響肌肉代謝碳水化合物(葡萄糖)的能力。丙酮酸去氫酶為碳水化合物代謝中重要的催化酶，許多文獻顯示長期游離脂肪酸濃度的上升會降低丙酮酸去氫酶的活性，而導致葡萄糖的代謝能力下降，因而導致血中葡萄糖濃度上升，最終導致糖尿病。然而其機制尚未完全釐清。職為國防醫學院生理及生物物理學科講師，在碩士班時蒙謝博軒教授之指導，在代謝領域有了點小小的收穫，並在學校及師長的支持下獲得國防部 4 年國外博士進修補助，於 105 年順利申請到英國諾丁漢大學生命科學所生理及藥理博士學程，對內分泌代謝領域作更深入之研究。在 Tim Constantin-Teodosiu 博士及 Paul Greenhaff 教授的共同指導下，探討轉錄因子 PPARs 及 FOXO1 在棕櫚酸誘發之丙酮酸去氫酶活性下降中所扮演的角色，此外也探討 Dichloroacetate、R-alpha lipoic acid 及 Electrical Pulse Stimulation (電刺激)是否能改善丙酮酸去氫酶之活性及其可能之機轉。

目次

摘要	2
目的	4
過程	5
心得與建議	9
致謝	10。

目的

代謝失衡(metabolic inflexibility)是體內失去調控碳水化合物及脂肪酸代謝平衡之能力。在現今人們長期高熱量飲食而導致人體游離脂肪酸濃度上升的情況下，代謝葡萄糖的能力受到影響而下降，使得體內血糖濃度上升。丙酮酸去氫酶(Pyruvate Dehydrogenase Complex, PDC)為碳水化合物代謝中重要的催化酶，它可以將丙酮酸轉化為乙醯輔酶 A，乙醯輔酶 A 為人體內重要的化學物質，是人體產生能量(ATP)的重要因子，此外它是脂肪酸合成、膽固醇合成和生酮作用的碳來源。過去文獻顯示，在人體模式或動物模式下，高脂飲食誘發之游離脂肪酸濃度上升皆顯示丙酮酸去氫酶之活性有明顯的下降，而抑制丙酮酸去氫酶活性的蛋白-丙酮酸去氫酶激酶第四型(Pyruvate Dehydrogenase Kinase 4, PDK4)的表現則有明顯的上升。但其機制則尚未完全釐清。文獻顯示 PPARs 及 FOXO1 可能在丙酮酸去氫酶的調控中扮演重要的角色，故了解其在棕櫚酸誘發之代謝失衡中之角色將有助於釐清游離脂肪酸濃度上升導致之丙酮酸去氫酶之活性下降的機轉。另外，我們也同時探討 Dichloroacetate、R-alpha lipoic acid 及 Electrical Pulse Stimulation (電刺激)是否能改善丙酮酸去氫酶之活性及其可能之機轉，提供高脂飲食導致的代謝疾病之新治療方向。

過程

第一年

1. 剛到英國很快的會面臨不同的生活與語言環境，於剛開始的前 1-2 個月首先安置好住宿，銀行的開戶，參予學校的英文課程及研究部門的相關活動，逐漸地適應環境並持續加強自我語言的溝通表達能力。
2. 開始閱讀相關文獻，了解丙酮酸去氫酶之相關知識，並學習相關之實驗，如葡萄糖攝取，乳酸濃度測量，丙酮酸去氫酶活性測量，ATP 產生速率實驗等等。
3. 學習如何培養骨骼肌細胞及其相關知識
4. 開始進行第一個實驗，建立棕櫚酸誘發之骨骼肌細胞代謝失衡模式，並測量其相關指標來確定是否建立成功。其中棕櫚酸難溶於一般水溶液，查閱了許多文獻並作了許多嘗試後，順利地克服了這個難關。
5. 第一年結束前需撰寫第一年報告並在學年結束前舉行 First year viva, 由學校指派的 internal assessor 進行口試，測驗對實驗主題的了解及其相關知識。當然是順利地通過了。

第二年

1. 為了探討 PPARs 及 FOXO1 在丙酮酸去氫酶的調控中扮演的角色，我們使用 siRNA 去抑制其基因表現，並使用 Real-time PCR 來驗證基因抑制是否成功。將 siRNA 順利送進細胞花了不少時間去嘗試條件，最後也順利的完成了。
2. 實驗結果發現抑制 PPAR α 、PPAR δ 、以及 FOXO1 基因表現後，丙酮酸去氫酶的活性皆有上升。同時，葡萄糖的攝取也有顯著的改善。在分子層面，我們發現 PPAR δ 以及 FOXO1 被抑制後，PDK4 的表現被顯著的抑制了，而抑制 PPAR α 後，PDK4 的表現沒有顯著的變化。在 ATP 產生速率上，抑制 PPAR α 以及 FOXO1 基因表現後，有明顯的改善。結果顯示 PPAR α 、PPAR δ 、以及 FOXO1 在丙酮酸去氫酶的調控上皆扮演重要的角色，但其機制則有所不同。
3. 同樣的在第二年結束前，需繳交 Second year report，詳述實驗之進度，重點擺在實驗的結果及討論。
4. 學校規定第二年的博士生須在學校舉辦的每年一度之生科研討會上張貼海報，也順利的完成了此項任務，並得到了許多寶貴的建議。

第三年

1. 探討 Dichloroacetate(DCA)及 R-alpha-lipoic acid (RALA)是否能改善棕梲酸誘發之丙酮酸去氫酶活性下降及提高碳水化合物的代謝。DCA 為 PDK4 的抑制劑，過往文獻顯示 DCA 能改善丙酮酸去氫酶之活性，但目前沒有證據顯示 DCA 是否能改善高游離脂肪酸導致之活性下降。RALA 在過往文獻被認為可以改善糖尿病相關之併發症及抗氧化，但同樣的，沒有文獻顯示 RALA 是否能改善高游離脂肪酸導致之丙酮酸去氫酶活性下降。
2. 實驗結果顯示 DCA 及 RALA 皆顯著的改善了丙酮酸去氫酶活性，此外 RALA 還顯著改善了葡萄糖攝取及 ATP 的產生速率。在分子層面，我們發現 DCA 顯著的抑制了 PDK4 的表現，而加入 RALA 後，PDK4 的表現沒有顯著的變化。
3. 這部分的實驗結果也順利的在 2019 年在西班牙錫切斯舉行的運動代謝研討會上進行海報發表。
4. 學校規定第三年的博士生須在學校舉辦的每年一度之生科研討會上進行口頭報告，也順利的完成了此項任務，並得到了許多寶貴的建議。

第四年

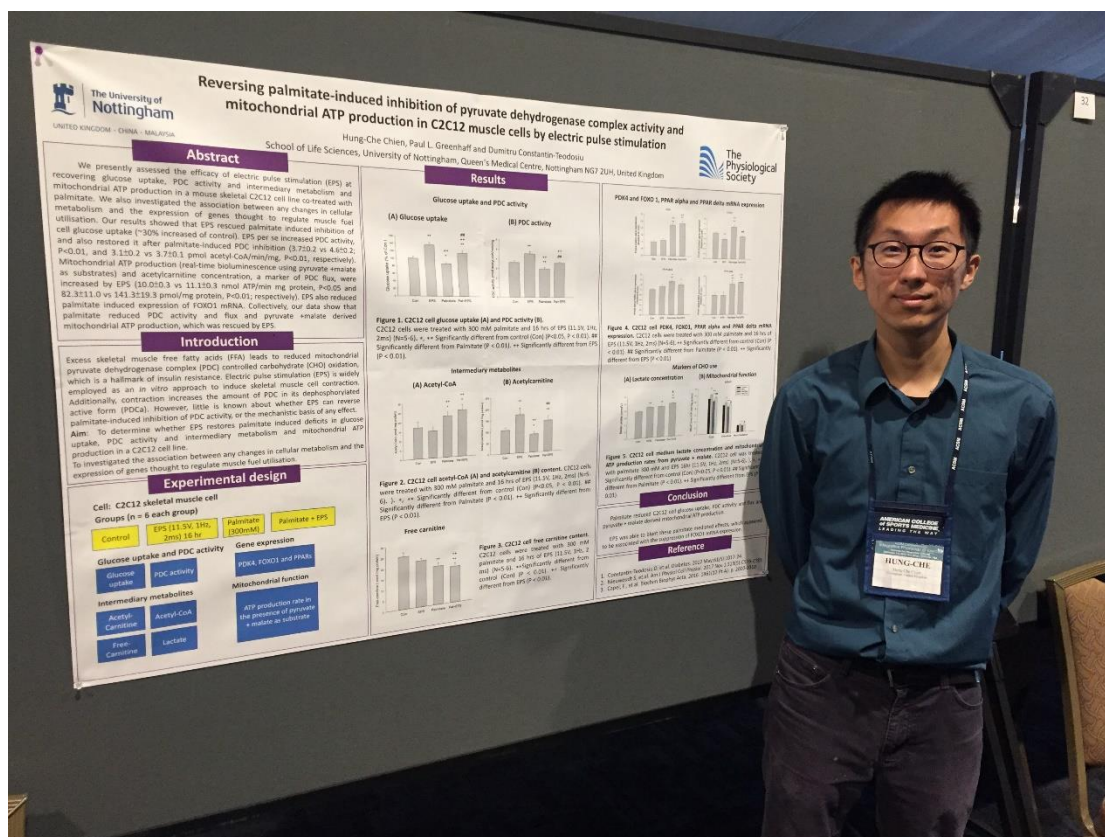
1. 探討 Electrical Pulse Stimulation (EPS)是否能改善棕櫚酸誘發之丙酮酸去氫酶活性下降及提高碳水化合物的代謝。EPS 可引發肌肉細胞收縮，可用來模擬肌肉運動狀態。過往文獻顯示運動或 EPS 能改善人體丙酮酸去氫酶之活性，但目前沒有證據顯示 EPS 是否能改善高游離脂肪酸導致之活性下降。
2. 實驗結果顯示 EPS 顯著的改善了丙酮酸去氫酶活性，此外 EPS 還顯著改善了葡萄糖攝取及 ATP 的產生速率。在分子層面，我們發現 EPS 顯著的抑制了 PDK4 的表現，同時，PPAR δ 以及 FOXO1 的表現也有顯著的下降，顯示 EPS 可能藉由調控 PPAR δ 以及 FOXO1 進而降低 PDK4 的表現。
3. 於 2020 年 5 月完成博士論文的撰寫，並於 2020 年 8 月接受博士學位口試答辯，順利通過了博士學位口試。與此同時也把研究結果投稿到相關科學期刊。

心得與建議

1. 語言壓力及文化差異大概是出國進修面臨最大的問題，語言問題常使得與老闆討論實驗或參與會議時，無法順利表達心中所想及疑問，只能自己私下尋找答案。故出國前及在進修期間加強自己的英文能力還是非常必要的。而東西方的文化差異也需要去時間去習慣，課餘的時間去尋找一個排解壓力的方法也是很需要的。
2. 在英國進修博士學位，較需要自己主動去學習，英國學校無修課要求，好處是有較多時間可以探索自己的研究領域，不用花時間上一些自己不需要的東西。建議前來英國進修前，多夯實本身研究基礎，並需要主動去學習。
3. 與國內的實驗室相較，覺得國外的學生雖然常常很晚才來實驗室，很早就離開，但在實驗室或辦公室就是專心致志的做實驗，看文獻寫文章，而台灣的學生大部分到實驗室後就先划划手機，看看電腦，在辦公室放空聊天。覺得國外的學生在辦公室的態度是值得我們學習的。

致謝

能有幸於國外知名大學接受博士學位的訓練歸功於國防醫學院，軍醫局及國防部各位師長及長官的支持與幫助，當然也感謝我的指導老師 Tim Constantin 博士及 Paul Greenhaff 教授的指導及在生活及實驗上的協助，在這四年除了讓我學習到了許多研究方法及技術，也讓我有機會體驗到多樣的國外生活文化，希望未來持續秉持對研究的熱忱，並運用所學為國防醫學院做出貢獻。



參與研討會



諾丁漢大學一景