

出國報告(出國類別：進修)

以動物模型了解腎臟遠端腎小管離子通道 在慢性腎臟病及鈣調神經酶抑制時的角色

服務機關：國防醫學院三軍總醫院

姓名職稱：魏光宇、主治醫師

派赴國家/地區：荷蘭鹿特丹

出國期間：108年9月1日至112年8月30日

報告日期：112年10月17日

摘 要

近年來，膳食中的鉀離子已經成為可調節血壓和健康的重要因素，腎臟遠端小管中的“鉀開關 (potassium switch)”提供了此臨床現象的新穎解釋，此開關解釋了為什麼腎臟快速排泄鉀離子的機制也能有助於對抗高血壓、保護心血管和延緩慢性腎臟病。本研究的第一部分旨在了解慢性腎臟病的大鼠模型如何改變腎小管中的鈉離子和鉀離子的運輸，及如何影響低鉀和高鉀膳食的急性和慢性腎臟生理反應；研究的第二部分聚焦於調鈣神經酶抑制劑對腎臟遠端小管的藥理學影響，旨在比較新型的調鈣神經酶抑制劑 Voclosporin 與傳統的調鈣神經酶抑制劑 Tacrolimus 在腎小管的效應，此外，我們也研究臨床試驗中接受 Voclosporin 治療患者的尿液細胞外囊泡 (Extracellular Vesicles)，並找尋相關的治療標記物。

目 次

	頁碼
壹、 進修目的.....	4
貳、 進修過程.....	5
參、 進修心得.....	9
肆、 回單位後報告情形.....	10
伍、 建議事項.....	10
陸、 進修對單位之貢獻.....	11

壹、進修目的

職於三軍總醫院腎臟科臨床訓練中，接觸到許多電解質異常的病人，尤其是鉀離子相關的疾病，其中包含了許多先天或後天造成的腎小管疾病，在林石化教授的指導下，職累積了許多臨床診斷的經驗，過去科內老師在小鼠模型的基礎研究有相當好的成果，然而，在慢性腎臟病狀態下的電解質異常則較少著墨，科內也較少著重於慢性腎臟病血壓的研究且較缺乏大型臨床試驗的經驗，因此，為拓展電解質的研究，職將著重於慢性腎臟病的大鼠模型，研究慢性腎臟病對鉀離子生理機轉及血壓的影響，進而學習國外大型臨床試驗的相關經驗，希望藉此能拓展科內電解質的研究領域及合作機會，並加強本身的基礎研究能力，將來應用於疾病之生、病理機轉之研究。

貳、進修過程

職於出國先行與荷蘭指導教授 (Ewout J. Hoorn) 進行面試，討論可能研究主題與研究資源，荷蘭教研究團隊專攻於腎小管離子運輸機制及其在人類疾病中的角色，包含大型臨床試驗及基礎研究，經由數次視訊會議後，我們一致認為鉀離子在慢性腎臟疾病中的角色符合我的興趣和雙邊研究方向，職預計專攻於動物模型的基礎研究，在取得教授的接受函後，開始博士四年的研究。

在荷蘭，博士論文基本上包括四篇原創文章及一篇綜合回顧評論，荷蘭指導教授角色為研究合作與技術支援，研究生需對自己研究進度負責，掌握進度並學習所需的技術，因此，博士生需盡早確立研究主題及所需資源，並學習相關研究技能，以利完成博士答辯所需論文章節，以下為職研究章節的規劃：

第一章：緒論 + 論文目的。

第二章：綜合回顧評論。

第三章：以動物模型了解慢性腎臟病如何改變飲食鉀離子的慢性生理反應。

第四章：以動物模型了解慢性腎臟病如何改變飲食鉀離子的急性生理反應。

第五章：鈣調神經酶抑制劑對腎臟遠端小管的體外(動物)研究。

第六章：鈣調神經酶抑制劑對狼瘡性腎炎病人尿液細胞外囊泡的生物效應。

第七章：各章節摘要 + 綜合討論

以下分別敘述各章節研究過程、簡短內容及文章發表：

1. 綜合回顧評論職於到荷蘭的前半年完成，並發表於歐洲腎臟學會雜誌 (Clin Kidney

J. 2020 Sep 2;13(6):952-968)，此綜合回顧內容涵蓋腎臟在管理飲食鉀離子的重要生

理功能，本文章先觀察過去發表的研究，強調增加飲食鉀離子攝入的重要性，此與減少飲食鈉離子的重要性不相上下，接著，職深入回顧低鉀和高鉀飲食如何調節遠端腎小管的鈉、氯共同運輸蛋白（NCC）活性，並連結此生理機制與臨床相關性，這些機制提供了飲食鉀離子與血壓調節的新穎解釋，此外，職呈現人類流行病學研究和動物模型的實驗數據，顯示飲食鉀離子也可能保護腎臟，雖然我們團隊相信慢性腎病患者也可能受益於增加飲食鉀離子攝入，但仍有許多知識的空白，因此，藉由此回顧性文章確立了往後動物模型的研究目的，職希望藉由動物模型了解慢性腎臟病如何改變飲食鉀離子的生理反應。

2. 職採用的慢性腎臟病動物模型為六分之五腎臟切除的大鼠模型，第一年先接受兩周的動物實驗課程訓練，通過考試並取得歐洲動物實驗證照，本實驗室有專屬的動物房及手術室，經由資深的動物實驗技術員指導，職熟習技能包含慢性腎臟病動物模型的建立、主動脈內即時血壓偵測器的置入及監測，還有動物檢體的收集及保存方法，動物實驗進行前需撰寫動物實驗計畫，經由歐洲動物倫理審議會審查後方可進行實驗，以下簡述實驗結果，納入論文的第三及第四章。

第三章內容發表於歐洲腎臟醫學會雜誌 (Nephrol Dial Transplant. 2023 Oct

9:gfad220. PMID: 37813819)，此研究顯示：在正常腎功能的大鼠中，低鉀飲食導致輕微低血鉀症和腎臟肥大，而高鉀飲食則沒有不良影響，於慢性腎臟病大鼠中，低鉀飲食導致嚴重細胞內、外鉀離子流失和腎損傷，表現為腎臟肥大和 T 細胞浸潤，高鉀飲食則導致高血鉀症、高醛固酮症和伴有腎臟纖維化的高血壓。此研究潛在的臨床意義為慢性腎臟病增加對低和高鉀飲食負面影響的敏感性，特別是對患有慢性腎臟病的人來說，確

定飲食中最佳鉀攝入閾值非常重要，此臨床問題正在進行大型的臨床試驗，此結果對慢性腎臟病鉀離子飲食衛教佔有重要角色。

第四章為第三章的延伸研究，旨在量化慢性腎臟病大鼠腎小管離子通道的變化並探討這些變化如何影響急性鉀離子的處理，職利用利尿劑功能性研究及免疫印跡方法比較慢性腎臟病大鼠與正常腎功能的大鼠離子通道的功能及蛋白變化，職發現慢性腎臟病大鼠增強了每個腎單位的活性並將鈉離子重吸的功能由近端轉移到遠端腎小管，此轉移雖可補足慢性腎臟病大鼠長期鉀離子的排泄的缺陷，但造就了代謝性酸血症及鹽的滯留，因而造成高血壓，然而此長期的腎小管的功能性改變破壞了急性鉀離子的排泄反應，慢性腎臟病大鼠在急性高鉀飲食下呈現高血鉀症，這與遠端鈉離子通道已達飽和或反應僵化有關，總結來說，這些鈉離子和鉀離子處理的變化有助於解釋慢性腎臟病產生鹽敏感性高血壓和高血鉀症的趨勢。此研究已完成，近期將投出，

3. 除了飲食鉀離子對於遠端腎小管的鈉、氯共同運輸蛋白(NCC)的影響外，藥物治療也會影響其調節。鈣調神經酶抑制劑（如 Tacrolimus 和 Cyclosporin），為免疫抑制藥物，用於器官移植後預防排斥反應和治療自身免疫疾病。然而，它們的使用會導致副作用，包括高血壓、高血鉀症、代謝性酸中毒、低血鎂症和高鈣尿症。這些副作用大多歸因於鈣調神經酶抑制劑對遠端腎小管的影響，指導教授 Ewout J. Hoorn 於過去於小鼠研究中首先發現型鈣調神經酶抑制劑 Tacrolimus 能激活遠端腎小管中鈉、氯共同運輸蛋白(NCC)，因而導致高血壓及電解質不平衡，最近，一種名為 Voclosporin 的新型鈣調神經酶抑制劑，已根據二期和第三期床試驗結果，在美國和歐洲被批准作為治療活動性狼瘡性腎炎的首個口服治療藥物，臨床試驗觀察指出，Voclosporin 似乎不影響遠端小管，但缺乏實

驗數據支持，本實驗室長期與藥理實驗室合作，專攻於大鼠即時血壓監測及藥物反應，因此，本團隊與 Voclosporin 藥廠合作，在大鼠中比較了 Tacrolimus 和 Voclosporin 的腎小管效應。職於博士第三年開始此實驗，耗時一年半完成，比較了多種遠端腎小管的藥物反應，包含血液、尿液、血壓、利尿劑測試、腎小管轉運蛋白的基因及蛋白質表現、高鹽食物測試等比較，我們發現，與 Tacrolimus 相比，Voclosporin 未對遠端小管中的鎂、鈣和鈉運輸產生影響，因此未導致低血鎂症、高鈣尿症和鹽敏感性的高血壓，然而 Voclosporin 確實導致了一種對鹽耐受的高血壓形式，此研究已投稿，目前期刊同濟審查中。

4. 此外，本實驗室亦專攻於尿液細胞外囊泡 (Extracellular Vesicles) 研究，尿液細胞外囊泡日益成為腎臟中的新型細胞調節因子、生物標誌物和治療靶點，它們來自腎臟內和腎臟外的細胞，並反映母細胞的狀態，因此，在各種腎臟疾病中，它們可能作為敏感且特異性的生物標誌物和訊使者，我們利用此技術，分析大型臨床試驗的生物標誌，在新型的鈣調神經酶抑制劑 Voclosporin 的二期以及三期試驗中，相對於安慰劑，Voclosporin 顯著提高了腎臟反應率，我們進一步透過分析臨床試驗者尿液中的細胞外囊泡來探討這種治療反應，透過尿液細胞外囊泡的蛋白質譜分析，我們鑑定出在狼瘡性腎炎患者對 Voclosporin 治療反應中潛在的生物標誌，此外，對 Voclosporin 有治療反應的患者中，我們發現了被改變的生物過程，包括補體以及與中性粒細胞相關蛋白質的特定變化，初步結果已於 2023 年美國腎臟醫學會壁報發表。
5. 除了研究的進行外，在博士進修過程中需修課滿30學分 (8小時計0.3學分): 學分包含院內課程 (各類統計學及理論及實作課、動物課程、生物技術等) 及參與國際會議，職在

進修四年中已完成35學分。

參、進修心得

1. 職認為在荷蘭進修的過程中，收穫最大的並不是學到艱難或深入的技術，而是如何發現和解決問題的能力，在荷蘭的老闆不會告訴我該做什麼，而是自己需要思考自己想要做什麼，評估可行性，與老闆討論可用的資源，過程中一定會遭受許多失敗和挫折，但這些都是累積下次實驗成功的必經之路，因此培養良好的溝通能力及抗壓力是絕對必要的條件，相對於台灣的學生，國外學生的研究能力及努力程度並沒有特別突出，但是表達能力及提問的能力遠遠勝過我們，這不單純只是語言能力，而是要在平日人與人的接觸中及會議中培養，這也是職日後該重視與學習的重點。
2. 荷蘭人大都不會超時工作，會在生活與研究間取得良好的平衡，這有助於保持身體健康及思路清新，這與台灣過勞的環境差別甚大，此外荷蘭著重於分工，例如技術員專注於特定技術，博士生與各個技術員配合，可加快實驗效率，相對於台灣，常常一個人單打獨鬥，因此，團隊的合作是後續回台灣需注重的。
3. 要有大型或是深入的研究，並讓實驗有效率的運作，一定要有充足的研究經費，因此，計畫主持人獲取計畫經費的能力相當重要，這取決於計畫撰寫的邏輯性及新穎度，能有多實驗室及多計畫主持人的合作，更能加強計畫的完整性，好的研究絕對不可能單一實驗室單打獨鬥，拓展國際的交流與合作勢在必行，這些都是回國後需努力建立的。
4. 國外的課程很重視自修及實作，課堂時間大部分是用來討論，如此能加強理論和應用的結合，對學習很有幫助。
5. 荷蘭因為轉診的制度，教學醫院內只會接受其他醫院轉診的病患，因此相較於台灣的醫

院，一線接觸病人的機會少很多，這是台灣研究環境上的缺點也是優點，缺點是臨床醫師負荷太大，研究時間被壓縮，但優點是有龐大的病人群可做為研究來源。

肆、回單位後報告情形

職於回國後已於112年10月17日於腎臟科會議中分享研究內容，也接受科內許多老師的回饋，科內老師在不同的研究領域中各有專精的技術，包含腎小管的分離及灌注技術，此對於職日後的研究非常有幫助，職也會將所學結合科內現有資源，延續研究能量，並持續與荷蘭教授合作。

伍、建議事項

1. 研究需要時間堆疊，從錯誤中尋找未來正確的研究方向，職所在學校，博士生畢業通常需時5至7年，因此建議國防部不要把取得學位當成四年修業的必要結果，並規定未取得學位禁止提前歸國，造成回國時與臨床工作的銜接困難，建議應該給研究生多點彈性的空間。
2. 要讓醫院及學院能有充足的研究能量，醫院及學院需建立良好的資訊系統及購買必備的研究工具與軟體，讓投入研究的老師、學生及醫療人員能有足夠的資源及工具可使用，職所在的學校只要有醫院帳號，都能有充足的統計、繪圖等軟體支援，也能以較便宜的經費購買昂貴的研究軟體使用。

陸、進修對單位之貢獻

腎臟科對於水分及電解質的研究已有相當的成果，此次進修增加慢性腎臟病動物模型的建立、更精準的血壓研究方法及尿液細胞外囊泡的研究技術，期能為本科未來的研究加入更多元素，並進而應用於發現新的疾病機轉和測試藥物反應，且應用於病人的診斷與治療。