

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## Harakiri 作為口腔鱗狀上皮細胞癌的基因治療研究 研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型  
計畫編號：NSC 96-2314-B-040-037-  
執行期間：96年08月01日至97年07月31日  
執行單位：中山醫學大學牙醫學系

計畫主持人：黃裕峰  
共同主持人：楊惠雯  
計畫參與人員：此計畫無其他參與人員：

報告附件：出席國際會議研究心得報告及發表論文

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 97 年 10 月 14 日

細胞凋亡 (apoptosis) 是一組織、器官在生長發育過程中所必須的一種細胞調控機制。倘若此一機制發生錯誤，細胞便會產生許多疾病，如癌症、自體免疫疾病...等等。當細胞經歷細胞凋亡時，細胞核的外層會逐漸崩解，且核仁會出現濃縮的染色質，細胞質混形成小胞 (blebs) 及小水泡 (vesicles)，接著細胞會與細胞外間質失去接觸，產生萎縮崩解。目前對此一機制是如何調控的並非十分地清楚，但以發現許多蛋白質與細胞凋亡有關，如 Bcl-2 family protein、Fas ligand... 等等以及 Harakiri (Hrk)。

Hrk 基因位在染色體 12q13.1，是屬於 Bcl-2 family protein 的一種，Bcl-2 family protein 主要分成三類，第一類：抗細胞凋亡蛋白質 (anti-apoptotic proteins)，這一類的蛋白質在結構上具有四段相似的 BH 區段 (Bcl-2 homology domains)，主要是能抑制粒線體釋放細胞色素 C (cytochrome C)，進而抑制細胞凋亡的發生。這些包括 Bcl-2, Bcl-XL... 等等。第二類：多區段促胞凋亡蛋白質 (Multidomain pro-apoptotic proteins)，這一類的蛋白質具有三段 BH 區段，並會促進細胞色素 C 的釋放，導致細胞凋亡的發生，如 Bax, Bak... 等等。第三類：單一 BH3 區段蛋白質 (BH3-only proteins)，如 Bim。Hrk 蛋白質也屬於第三類。Hrk 的蛋白質主要作用於第一類抗細胞凋亡蛋白質，使其活性中和，進而降低其抑制立憲體釋放細胞色素 C 的能力，換言之，會有較多的細胞色素 C 被釋出，然後跟 Apaf-1、Pro-caspase 9 形成 Apoptosome。活化態的 caspase 9 在活化 Caspase 3、7，最終導致細胞凋亡。因此，若此類斷白質異常，發生突變或去氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic acid; DNA) 受損的細胞便不容易執行細胞凋亡，而有可能導致癌細胞的生成。

直到今天，沒有直接的實驗數據來連接 Hrk 蛋白質在口腔癌的表達。本計劃的目標是要研究 Hrk 在口腔癌組織中的表達狀態，並且研究 Hrk 在口腔癌細胞株的功能。

結果顯示：以 RT-PCR 在人體的口腔癌組織裡偵測 Hrk RNA 的表達狀況發現表達的量非常的低，而且有些表達稍高，但是有些表達較低。在試驗的三株不同的口腔癌細胞株中，GNM 的 Hrk 表達最高，OC2 及 TSCC 次之。相較於正常的人類牙齦纖維母細胞株 (Human Gingival fibroblast, HGF)，三株口腔癌細胞株都出現有大約 600 bp

的 RT-PCR 段落，其代表的意義有待 sequencing 來確認。若將 HGF 及 GNM 培養在 PBS 裡以便模擬細胞在 stress 下的狀態，HGF 的 Hrk 表達在培養 12 小時後大量增加，但隨即下降，到 48 小時的時候已經沒有存活的細胞。反觀當 GNM 培養在 PBS 時，Hrk 的表達則逐漸下降，到 72 小時就偵測不到，只是顯微鏡下仍可觀察到些許細胞存活。至於 Bcl-2 的表達在 HGF 細胞裡，在 12 及 24 小時的時候都有明顯的上升，但在 48 小時就已死亡；在 GNM 細胞的 Bcl-2 表達則是逐漸下降。這組實驗數據似乎代表 HGF 仍保有細胞“求生存”的機制，但是 GNM 細胞則沒有，而且 GNM 細胞似乎比較能夠抵抗“不良的生長環境”，也或許代表為何癌細胞容易在逆境中存活而生長。另外再將細胞培養在不同濃度的 Fetal Bovine Serum (FBS) 中的 Hrk 及 Bcl-2 的表現狀況類似以上所述。

此外，我們也嘗試去 clone Hrk 的 cDNA。全長的 Hrk cDNA 大約是 275 bp。可是在許多的嘗試後仍然無法得到正確的 cDNA。因此目前仍然在嘗試當中。

## 出席國際學術會議心得報告

計畫編號	NSC 96-2314-B-040-037
計畫名稱	Harakiri作為口腔鱗狀上皮細胞癌的基因治療研究
出國人員姓名 服務機關及職稱	黃裕峰
會議時間地點	舊金山, 美國
會議名稱	世界口腔病理學會
發表論文題目	

### 一、參加會議經過

世界口腔病理學會今年與美國口腔顎顏面病理學會一起舉行，日期從 6月22日到6月26日，在美國舊金山舉行，共有來自全世界數百位口腔病理專科醫師及研究學者參加。在數個專題當中，包括了口腔癌與癌前病變。

### 二、與會心得

整個演講由臨床的表徵逐步深入到有關口腔癌的分生生物學研究，內容深入淺出。我個人覺得幾位演講者把複雜的癌症發生過程逐一剖析。我覺得口腔癌的研究在台灣應該有很好的發展空間，因為有很高的發生率。在會場裡和幾位在研究口腔癌的科學家交換了許多意見，也接受了許多他們提供的建議。