

科技部補助專題研究計畫成果報告 期末報告

探討第四型二肽基肽酶及miRNA-29參與脂質載運蛋白抑制口腔
癌細胞侵襲和轉移之分子機制

計畫類別：個別型計畫
計畫編號：MOST 106-2314-B-040-027-
執行期間：106年10月01日至107年09月30日
執行單位：中山醫學大學附設醫院

計畫主持人：楊惟恩
共同主持人：楊順發
計畫參與人員：此計畫無其他參與人員

報告附件：出席國際學術會議心得報告

中華民國 107 年 12 月 28 日

中文摘要：口腔癌在台灣位於十大癌症死因的第四位，且有頸部淋巴結轉移的機率，轉移則是造成病人死亡的主因。過去研究發現大量表現LCN2其細胞侵襲和轉移之能力受到抑制且與病人的存活率有正相關。以Protease array分析，發現大量表現LCN2之口腔癌細胞株(LCN2 stable clone)其DPP4有大量表現，且在LCN2 stable clone中上皮細胞間質轉化之能力亦受到抑制。Dipeptidyl peptidase IV (DPP4)屬於第二型穿膜絲胺酸蛋白酶 (type II transmembrane serine protease)在腫瘤形成的過程中扮演重要角色。大量表現DPP4於內生性表現量低之SCC9細胞中發現細胞轉移的能力受到抑制；於內生性表現量高之OECM-1細胞中knockdown DPP4，則會促進細胞之轉移能力，再利用LCN2 stable clone將其進行DPP4 knockdown，原本侵襲和轉移能力受到抑制的現象則有回復的情形，且LCN2的表現量不會被影響，由以上結果得知，DPP4於口腔癌細胞中扮演抑癌基因的角色。進一步在LCN2 stable clone中將LCN2 knockdown，發現DPP4的蛋白表現量則受到抑制且原本受抑制之mesenchymal marker (fibronectin, vimentin, p-smad3, ZEB-1 slug 與twist)則有回升的情形；更進一步以SB-431542 (TGF- β receptor kinase之抑制劑)處理LCN2 stable clone後發現細胞轉移之能力亦有回復的情形。綜合以上實驗結果得知，LCN2會透過增加DPP4的表現使口腔癌細胞侵襲及轉移之能力下降，同時經由抑制TGF- β /ALK5/Smad pathway路徑降低細胞轉移之間質型態標的物 (mesenchymal marker)的表現。

中文關鍵詞：口腔癌、脂質運載蛋白、肽基肽酶-4、細胞間質轉化

英文摘要：In Taiwan, oral cancer is the fourth most common cause of cancer. Tumor metastasis is the main cause of death in oral cancer. In the recent study, we found that LCN2 expression inversely correlated with the stage and lymph node metastasis and positively correlated with the survival of patients with oral cancer and it also suppresses the migratory and invasive abilities of OSCC cells in vitro. In our preliminary study, we found that dipeptidyl peptidase IV (DPP4) expresses in LCN2 overexpression OSCC cells by protease array assay. DPP4, belonging to serine protease family. Several recent studies have shown that DPP4 affects tumor progression, invasion and EMT in several human malignancies. In present study, we overexpressed DPP4 in SCC9 cells which have lower endogenous DPP4 expression and the migratory abilities significantly decreased. Compared with SCC9 cells, the higher endogenous DPP4 expression cells, OECM-1, were knockdowned of DPP4 by a siRNA and the migratory abilities significantly increased. This observation confirms that DPP4 may plays a tumor suppressor gene in OSCC. The transfection and expression of LCN2-specific siRNA in LCN2 stable clone, which significantly reduced DPP4 expression, with concomitantly increasing the mesenchymal marker including fibronectin, vimentin, p-

smad3, ZEB-1, slug and twist expression. Furthermore, SB-431542, an inhibitor of TGF-beta receptor kinase, treated LCN2 stable clone significantly reversed the LCN2-mediated inhibition of the migratory ability. According to the above, we observed that LCN2 suppresses cell migration by upregulating DPP4 expression and repressed the expression mesenchymal markers via TGF- β /ALK5/Smad pathway.

英文關鍵詞：Oral cancer, LCN2, DPP4, EMT

(一) 簡介

口腔癌泛指分佈於頰部、舌部、唇部、齒齦、軟腭、硬腭、口底區域軟組織所產生之惡性腫瘤 [1]。於頭頸癌中口腔鱗狀細胞癌 (OSCC) 為最常見的頭頸部惡性腫瘤之一且發病機率有逐年增加的情形 [2]，佔人類惡性腫瘤的 1~2%，且具有高度侵襲和轉移的能力。於口腔癌中，有 25%到 65%的機率會有淋巴轉移的情形，其存活率<40%，而沒有淋巴轉移之病患存活率則高達 90%，由此可知，淋巴結轉移為口腔癌預後的關鍵因素。因次，瞭解淋巴轉移之分子機制對於口腔癌之診斷及預後相當重要。癌細胞的侵襲與轉移往往是癌症病人死亡且導致癒後不良或復發的重要原因之一。雖然長期的癌症研究已經對腫瘤形成的過程有較清楚的方向，也了解腫瘤細胞侵襲和轉移在臨床上的重要性，但對於造成腫瘤細胞轉移過程中的複雜機制仍不清楚[3, 4]。

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)又被稱為 lipocalin 2 (LCN2) 屬於 lipocalin 家族成員之一，為一分泌型蛋白 [5]。目前研究顯示 LCN2 大量表現在許多癌症中，例如：卵巢癌、胃癌、大腸癌、子宮內膜癌、乳癌、肝癌和前列腺癌等[6-12]，由此可知 LCN2 與腫瘤細胞形成有密切的關係。過去研究顯示 LCN2 會透過與 MMP-9 的結合 [13]，使得 MMP-9 不被蛋白水解而維持高度的水解活性進而促使細胞進行上皮間質轉化 (EMT)，使細胞轉變為具有移動能力之間質細胞型態 [14]，但也有文獻發現，LCN2 在不同癌症中可能扮演著不同的角色，例如在卵巢癌及肝癌中，LCN2 則會抑制癌細胞 EMT 的過程[15, 16]；另有文獻由 Microarray 分析數據中發現，在某些腫瘤組織中，LCN2 於轉移組織中相較於正常組織有較低的表現量 [7]，由此可知，LCN2 在不同癌症之間所扮演的角色不盡相同。

Dipeptidyl peptidase IV (DPP4)屬於第二型穿膜絲胺酸蛋白酶 (type II transmembrane serine protease)，其存在於不同組織器官上[17-19]。DPP4 可透過水解不同的標的蛋白來調控發炎過程、免疫反應、訊息路徑的傳導及細胞凋亡等 [20-22]。過去研究顯示，DPP4 在腫瘤的形成過程 (如：細胞貼附，細胞侵襲及細胞週期停滯)及癌細胞分化中皆扮演重要角色[23-25]。例如有文獻利用免疫組織染色發現 DPP4 表現於子宮體內膜腺癌(Endometrial adenocarcinoma)之腺癌細胞而不會表現於間質細胞中，且在癌細胞分化程度較好的病人檢體組織中發現較高之 DPP4 表現 [23, 26]，同樣的結果也發現在卵巢癌及皮膚癌的臨床組織檢體中 [27]；在甲狀腺癌的研究中，DPP4 mRNA 之表現量於極度惡性之甲狀腺未分化癌(anaplastic thyroid carcinoma)中少於惡性程度較低之甲狀腺乳頭癌(papillary carcinoma)及濾泡性甲狀腺癌(follicular thyroid carcinoma) [28]；另外，在口腔癌病人的血清中亦發現 DPP4 相較於正常檢體有較低的酵素活性 [29]。由此可知，低表現之 DPP4 與細胞癌化及惡性腫瘤的

形成有關。除了臨床的研究結果外，於卵巢癌細胞的研究中顯示，大量表現 DPP4 並不會改變細胞生長的速度，而在黑色素瘤細胞中也發現 DPP4 的表現並不會影響細胞的生長速率及非貼附性生長之細胞聚落形成(anchorage-independent colony formation) [21, 30, 31]，由此可知，DPP4 似乎不會影響癌細胞的生長。但在大量表現 DPP4 的卵巢癌細胞株(SKDP4)中發現癌細胞的移動能力明顯的受到抑制並伴隨著基質金屬蛋白水解酶 (MMP-2 及 MT1-MMP)的下降及金屬蛋白酶組織抑制因子 (TIMP-1 及 TIMP-2) 的蛋白表現量上升，且細胞型態亦從 spindle/scattered 型態轉變為 epithelioid/cobblestone 的上皮間質轉化，使得上皮型態蛋白 E-cadherin 表現量上升，增加細胞與細胞間的黏附力 [32]。在動物實驗的研究中發現，將大量表現 DPP4 之卵巢癌細胞株(SKDP4)及控制組細胞株(SKDpcDNA)分別注入母裸鼠(BALB/c)之腹腔中，經過 30 天後發現，注入 SKDpcDNA 細胞之母鼠產生大量的腹水伴隨癌性腹膜炎的產生且普遍在網膜系統、腸系統及肝臟表面皆有腫瘤的生成，而 SKDP4 組別之母鼠僅有少量腹水產生；除此之外，SKDP4 組別之母鼠相較於控制組有較好之存活率(survival rate) [33]。雖然 DPP4 之抗癌活性被認為和降低與癌細胞侵襲和轉移相關之蛋白有關 [34]，但詳細的機轉仍不清楚，且其在口腔癌中所扮演的角色尚未被探討。實驗室初步的研究結果中發現，LCN2 大量表現會抑制口腔癌細胞侵襲和轉移之能力中，且 DPP4 也大量表現，因此本研究擬探討 DPP4 於 LCN2 抑制口腔癌細胞侵襲和轉移中所扮演的角色及相關分子機制探討。

(二) 材料及方法

1. 口腔癌細胞培養及處理

實驗室已建立穩定表達 LCN2 之口腔癌細胞株(SCC9 與 TW2.6)以不同培養基培養。SCC9 利用 DMEM/F12 培養基培養，加入適量 antibiotics、NEAA、hydrocortison (0.4 ug/ml)、10% heat-inactivated FBS 及 G418 (750ug/ml)；TW2.6 以 DMEM 培養基培養，加入適量 antibiotics、10% heat-inactivated FBS 及 G418 (250ug/ml)。

2. Cell migration 分析

利用 48 well Boyden chamber 的分析方法，lower chamber 為含有 10% FBS 的 DMEM，將試驗細胞以 0.05% 的 trypsin-EDTA 收集下來，並用 trypan blue 計算細胞數，然後注入固定量的細胞 (10^4 - 1.5×10^4 cell/well) 於 upper chamber，待細胞移動 24 hours 或 48hours 以後，取下薄膜，以甲醇固定細胞 10 分鐘，風乾 5 分鐘之後，以 Giemsa (1:20) 染色 1 hour，最後固定住薄膜，擦拭掉薄膜之上層細胞，在 400×顯微鏡底下每個 well 隨機選取 3 個視野，數 5 個 well，作移動細胞數之統計。

3. Cell invasion 分析

將 cellulose nitrate filters 預先 coating 上 $100 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ Matrigel (0.5 mg/ml)，在 laminar flow 風乾 3~5 小時，將試驗細胞以 0.05% 的 trypsin-EDTA 收集下來，並用 trypan blue 計算細胞數，然後注入固定量的細胞(10^4 - 1.5×10^4 cell/well) 於 upper chamber，待細胞移動 24 小時以後，取下薄膜，以甲醇固定細胞 10 分鐘，風乾 5 分鐘之後，以 Giemsa (1:20) 染色 1 小時，最後固定住薄膜，擦拭掉薄膜之上層細胞，在 400×顯微鏡底下每個 well 隨機選取 3 個視野，數 5 個 wells，作移動細胞數之統計。

4. In situ immunofluorescence 分析

將試驗細胞培養於 96 孔盤中，經 24 小時培養後，將培養液移除，以冰的 1×PBS 清洗兩次，再以 5% BSA 進行 blocking 1 小時，以 1×PBS 清洗兩次，加入 fluorochrome-conjugated primary antibody 避光靜置室溫作用一小時，再用冰的 1×PBS 清洗兩次，以微量孔盤測讀儀偵測螢光表現量，再以 Cell Counting Kit-8 (CCK8) 方法校正細胞數量。

5. RNA 干擾實驗 (RNA interference experiments)

將口腔癌細胞株以九分滿的細胞數均勻分至 6 cm dish 中，置於 37°C，5% CO₂ 培養箱中培養 16 小時後，將 15 μL 的 10 μM siRNA 與 15 μL Lipofectamine RNAiMAX reagent 以 1:1 (siRNA : Lipofectamine RNAiMAX reagent) 的比例均勻混合，過程中都用不含抗生素的 Opti-MEM

Medium 以利 Lipofectamine 包覆 siRNA，靜置室溫 20 分鐘後加入細胞中，24 或 48 小時後，收取細胞分析 mRNA 與蛋白質的表現，或是觀察細胞爬侵襲與轉移之能力。

6. 蛋白質(protein lysate)製備

試驗細胞經 PBS 清洗兩次後，加入適量細胞萃取液 (20 mM Tris-HCl、5 mM EDTA、0.5 mM EGTA、0.3 M sucrose、2 mM PMSF、10 μ g/ml leupeptin、25 μ g/ml soybean trypsin inhibitor typ I-S 和 50 mM β -mercaptoethanol，pH 7.5)，以刮杓收集細胞萃取液，再以超音波細胞震碎儀處理細胞，最後將萃取液經 4°C 下離心(13200 rpm) 30min 後，取上清液至新的微量離心管，置於-80°C 保存。

7. 蛋白濃度測定

蛋白質的定量是採用 Bradford protein assay 方法，其原理為蛋白質可與 Coomassie brilliant blue G-250 形成藍色複合物，當藍色越深表示蛋白含量越高。測試方法首先以一系列已知濃度 BSA 的蛋白溶液，加入五分之一體積的 Bradford protein dye，以波長 595nm 可見光之吸光度做一標準曲線，再以同樣的方法測得樣品之 O.D 值，即可根據標準曲線求得樣品蛋白之濃度。

8. western blotting 分析

利用 western blotting 的方法測定 LCN2 及 DPP4 的蛋白表現量及與 EMT 相關蛋白如: fibronectin, vimentin, p-smad3, ZEB-1 slug 與 twist); 首先製備 12.5% SDS-PAGE 電泳膠片，置於電泳槽中，並加入電泳緩衝液，取 16 μ l sample(蛋白總量 20 μ g)，加入 4 μ l loading buffer，將 sample denature (95°C，10 min)之後再 loading 到電泳片中，以 80V 進行電泳分離。大約 3 小時之後，將膠體進行蛋白轉漬，置入冰冷之 transfer buffer，將預先浸濕的 NC paper 蓋在膠體上面後裝入 transfer holder，於 4°C 下，以 400 mA 進行轉漬 2 小時之後，取出 NC paper 以 5% BSA 在室溫下進行 blocking 1 hours。然後加入一級抗體於 TBS buffer，在 4°C 下反應 overnight，之後以 washing buffer(TBS + 0.05% Tween 20) 清洗三次，每一次 10 分鐘。接著再加入二級抗體於 TBS buffer，於室溫作用二個小時後以 washing buffer 清洗三次，每一次 10 分鐘。最後以冷光顯影系統拍照紀錄，並以 densitometer (AlphaImage 2000，AlphaImage comp)量化結果。

9. total RNA 及 mRNA 分離

使用 RNeasy Mini Kit (Qiagen, Germany)進行 RNA 的萃取，操作過程完全遵照所提供之操作手冊。將細胞以 PBS 清洗 2 次後，加入適量 Buffer RLT 於試片上，以細胞刮棒收集 cell lysate 至 1.5 mL tube 中並 vortex 將細胞打散後，將 cell lysate 吸至 QIAshredder spin column 混合均勻後，以 8000xg 離心 2 分鐘，加入等體積之 70% 酒精於均質化的 lysate 中，並混合均勻，將 lysate 移置 RNeasy spin column，以 8000xg 離心 15 秒後，移除 collection tube 中的廢液，將 700 μ L 的 Buffer

RW1 加至 RNeasy spin column 中，以 8000xg 離心 15 秒，移除 collection tube 中的廢液，將 500 μ L 的 Buffer RPE 加至 RNeasy spin column 中，以 8000xg 離心 15 秒，移除 collection tube 中的廢液，將 500 μ L 的 Buffer RPE 加至 RNeasy spin column 中，以 8000xg 離心 2 分鐘，移除 collection tube 中的廢液。最後將 RNeasy spin column 套至 1.5 mL collection tube 中，直接加入 20 μ L 的 RNase-free water 於 spin column membrane 上，以 8000xg 離心 1 分鐘，將 RNA elute 至 RNase-free eppendorf 後，測量 RNA 濃度(A260/A280 ratio)

10. RT-PCR 分析

反轉錄作用

取 4 μ g RNA，以 65°C 反應 5 分鐘去 hairpin 後，立刻放到冰上，加入 10 \times RT buffer 以及(5mM) dNTP、(10 μ M) Oligo dT、(100 unit) RNase inhibitor、(4 unit) Omniscript Reverse Transcriptase 後，於 PCR 溫度循環機在 37°C 下反應 1 小時，以 -20°C 保存。

聚合酶連鎖反應

取 2.5 μ L cDNA 加入 7.5 μ L DEPC-H₂O，再加入 1.25 μ L forward primer 與 1.25 μ L reverse primer (10 μ M)、12.5 μ L HotStarTaq Master Mix (內含 2.5 units HotStarTaq DNA Polymerase、1X PCR buffer、200 μ M dNTP) 放入 PCR 溫度循環機，先以 95°C 作用 15 分鐘後，開始進入第 1 個循環作用 94°C 1 分鐘，annealing 溫度作用 1 分鐘，72°C 聚合反應 1 分鐘後，以 72°C 反應 10 分鐘最後以 -20°C 保存。

11. 即時定量聚合酶連鎖反應(Real-time PCR)分析

Real-time PCR 所使用之 PCR primer 和 TagMan MGB probe 為 Applied Biosystems。在 Primer 其 5'端標定 FAM (6-carboxyfluorescein) reporter fluorescent dye，3'端標定 MGB (minor groove binder)，此為 non-fluorescent quencher。以 ABIprism 7700 sequence detection system (ABI)進行 multiplex detection，25 μ L 之混合反應劑內含 5 μ L DEPC-H₂O，各 1.25 μ L 之 20X 標的 primers 與 probes，12.5 μ L 2X PCR master mix 和 5 μ L cDNA。所得之相對值根據標準濃度曲線計算各基因 mRNA 及 GAPDH mRNA 表現量。

12. 統計分析

所有數據將以電腦統計軟體 SigmaStat(Jandel Scientific Software, USA)進行 one-way analysis of variance (one-way ANOVA)分析。

(三) 結果 (Results)

一、口腔癌細胞株中 LCN2 大量表現使蛋白水解酶 DPP4 的表現量增加

在過去發表的文獻中證實 LCN2 的大量表現會抑制口腔細胞株之移動、爬行和侵襲之能力，於口腔癌細胞中扮演 tumor suppressor 的角色[35]。而癌細胞的侵襲和轉移與蛋白水解酶的關係密不可分，因此，我們利用 Protease array 的方式發現大量表現 LCN2 的 SCC9 細胞株 (SCC9/LCN2#2)其 DPP4 亦有大量的表現 (Figure 1A)，在 RT-PCR 及 real-time PCR 的結果也有同樣的情形(Figure 1B and C)，除此之外，利用 Cell surface immunofluorescence assay 也發現 SCC9 LCN2 stable clone (SCC9/LCN2#1 與 SCC9/LCN2#2)會增加 DPP4 於細胞膜上的表現(Figure 1D)。

二、蛋白水解酶 DPP4 對口腔癌細胞株轉移能力之影響

經由西方墨點法篩選多株口腔癌細胞株(Figure 2A)，挑選內生性 DPP4 表現量較低之 SCC9 細胞株進行 DPP4 之大量表現，其 DPP4 之蛋白及 RNA 之表現量皆有明顯上升且細胞轉移之能力有下降的情形(Figure 2B)；將內生性 DPP4 表現量較高之 OECM-1 細胞株進行 DPP4 knockdown 後，DPP4 之蛋白及 RNA 表現量皆有明顯下降而細胞轉移之能力有增加的情形(Figure 2C)。由以上結果得知，DPP4 於口腔癌細胞中扮演 tumor suppressor gene 的角色。收集培養過大量表現 LCN2 之口腔癌細胞株培養液(condition medium)，將含有 LCN2 之 condition medium 加在 Boyden chamber 的下層，將 SCC9 口腔癌細胞株種在 chamber 的上層，經過 24 小時培養後，由實驗結果顯示，SCC9 口腔癌細胞株轉移之能力受到抑制 (Figure 3A)；以相同模式將大量表現 DPP4 之口腔癌細胞株培養液(condition medium)加在 Boyden chamber 的下層，SCC9 口腔癌細胞株則種在 chamber 的上層，經過 24 小時培養後，由實驗結果顯示，SCC9 口腔癌細胞株轉移之能力同樣受到抑制 (Figure 3B)，由以上結果得知，微環境中存在 LCN2 及 DPP4 蛋白不利於口腔癌細胞株之轉移。

四、探討口腔癌細胞株中 LCN2 及 DPP4 之上下游關係

而我們想進一步釐清 LCN2 與 DPP4 之上下游關係，於 LCN2 stable clone 中將 DPP4 knowndown 後發現原本受抑制之侵襲和轉能力有回復的情形，而 LCN2 蛋白表現不受 DPP4 knowndown 的影響 (Figure 4A)，在 LCN2 stable clone 中將 LCN2 knowndown 後，由 western blot 結果發現 DPP4 蛋白表現量有下降的情形(Figure 4B)，由此可知 LCN2 的存在與否會影響 DPP4 之表現進而影響口腔癌細胞之侵襲和轉移能力。

五、在口腔癌細胞中探討 LCN2 於 EMT 中扮演的角色

於初步的研究中發現，穩定表現 LCN2 之 TW2.6 LCN2 stable clone (TW2.6/LCN2)其細胞型態由

間質細胞轉變為上皮細胞之型態(Figure 5A)，且 mesenchymal markers (fibronectin、vimentin)之蛋白表現量下降，epithelial marker (E-cadherin、ZO-1)之蛋白表現量上升(Figure 5B)，由此可知，LCN2 可能會透過影響 EMT 之 marker 表現以改變細胞型態進而影響細胞之轉移能力。因此，我們進一步將 LCN2 stable clone 進行 LCN2 knockdown 後，發現原本因 LCN2 而受到抑制的 mesenchymal markers (fibronectin、vimentin、p-smad3、ZEB-1、slug、twist)其蛋白表現量有回升的情形，而原本因 LCN2 而增加的 epithelial markers (E-cadherin、ZO-1)則受到抑制(Figure 6A and B)，我們更進一步的以 SB-431542 (TGF- β receptor kinase 之抑制劑)處理 LCN2 stable clone (LCN2#2)發現原本受抑制的轉移能力則有回復的情形且達統計意義(Figure 7)。綜合以上實驗結果得知，LCN2 會透過增加 DPP4 的表現使口腔癌細胞侵襲及轉移之能力下降，同時經由抑制 TGF- β /ALK5/Smad pathway 路徑降低細胞轉移之間質型態標的物 (mesenchymal marker)的表現進而影響口腔癌細胞之轉移能力。

附圖

Figure 1.

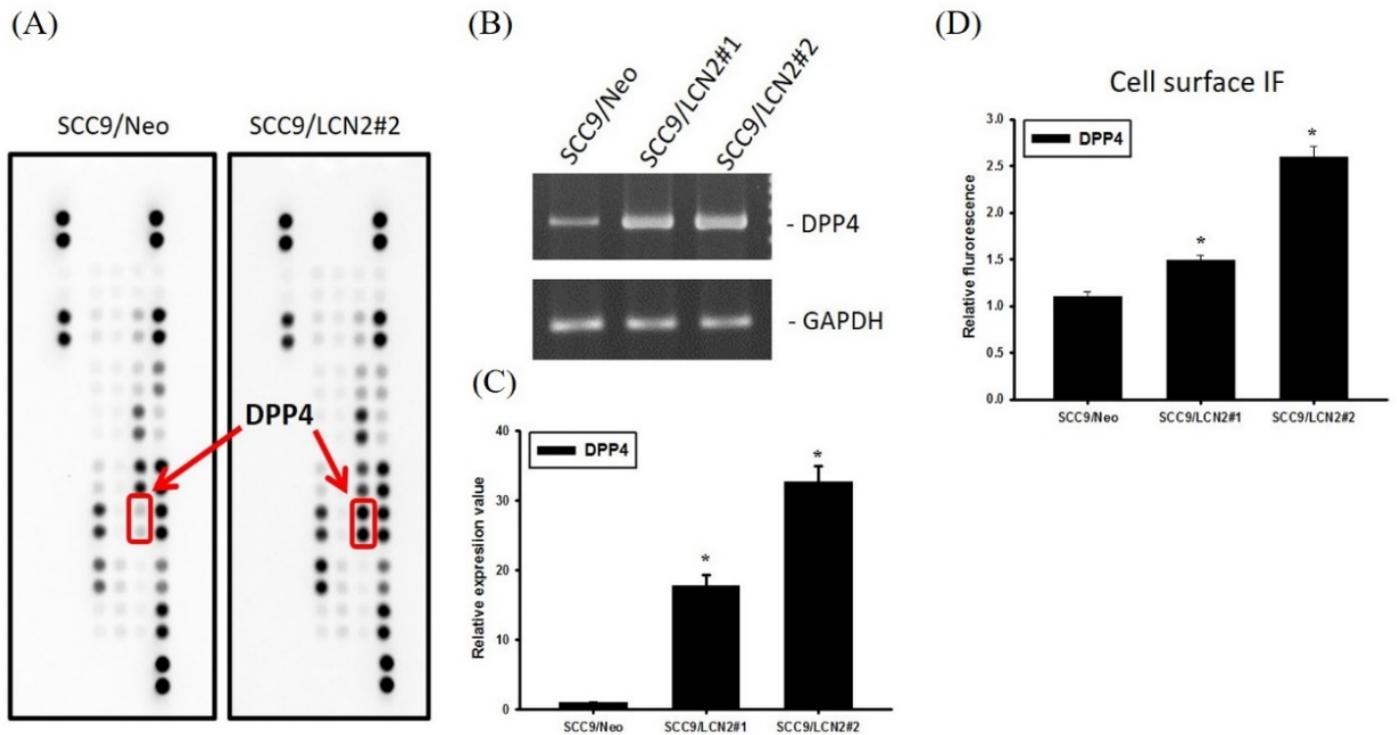


Figure 1. (A)以 Protease array kit 分析 SCC9/Neo 及 SCC9/LCN2#2 (LCN2 stable clone 的 SCC9 細胞株) 發現於 SCC9/LCN2#2 組別中其 DPP4 有大量表現；以 RT-PCR (B)及 real-time PCR (C)方法分析 SCC9/Neo 及 SCC9/LCN2#1 及 SCC9/LCN2#2，結果顯示 LCN2 表現量較高之 SCC9/LCN2#2 其 DPP4 之基因表現量亦較高。(D) 利用 Cell surface immunofluorescence assay 也發現 SCC9 LCN2 stable clone (SCC9/LCN2#1 與 SCC9/LCN2#2)會增加 DPP4 於細胞膜上的表現。(* $p < 0.05$)

Figure 2.

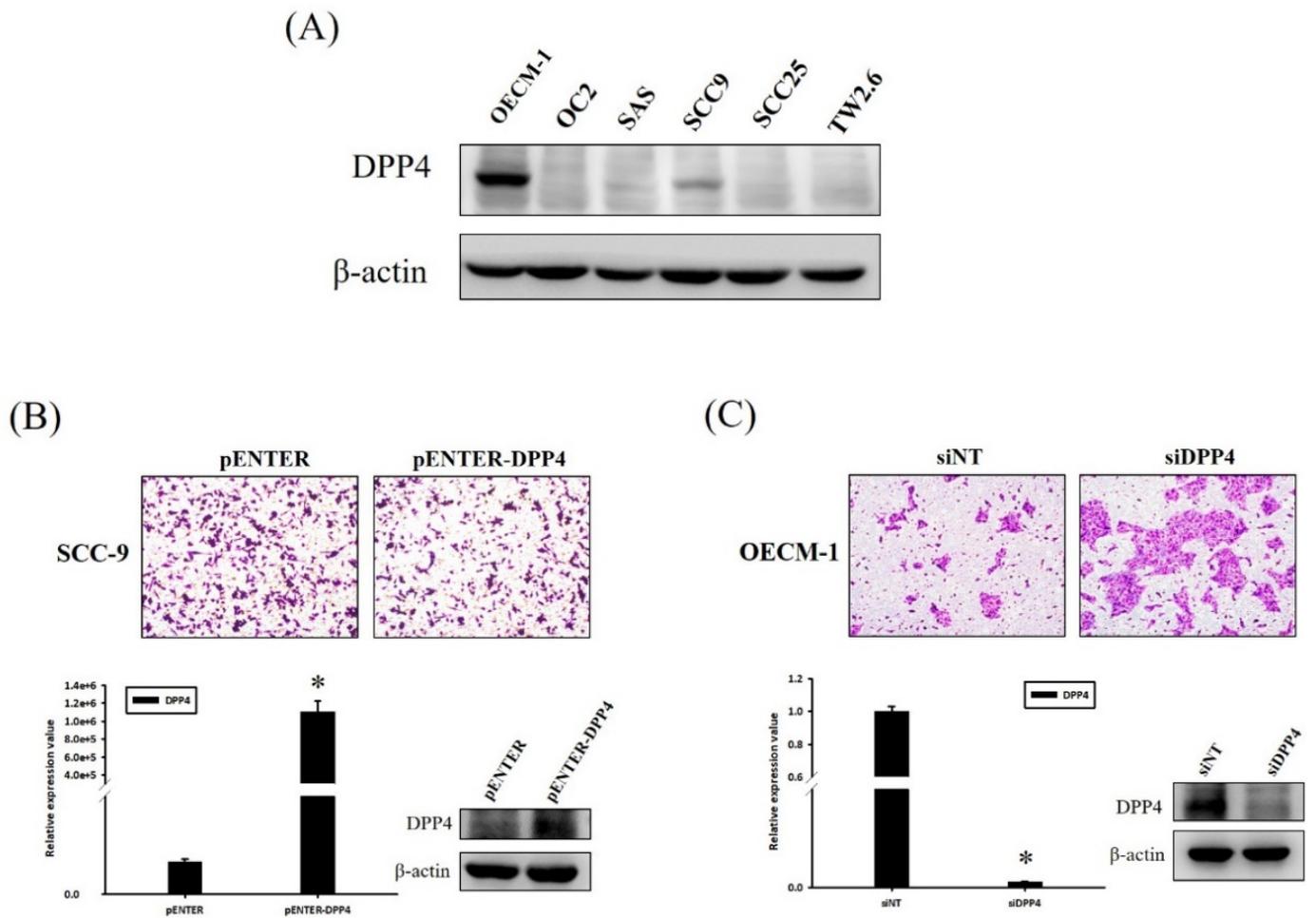
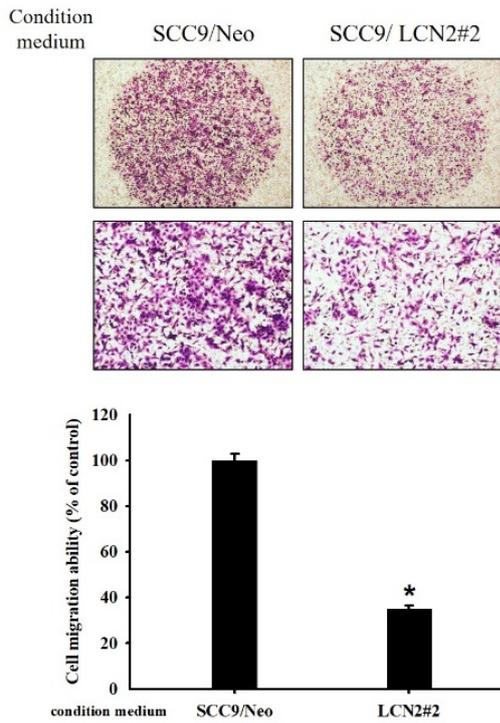


Figure 2. (A)以 western blot 分析各口腔細胞株中內生性 DPP4 之蛋白表現量 (B)利用 gene overexpression 技術將 pENTER-DPP4 大量表現於 SCC9 細胞中，以 real-time PCR 及 western blot 確認其基因與蛋白大量表現，且由 Cell migration assay 中發現，大量表現 DPP4 之細胞其轉移能力受到抑制。(C) 利用 RNA interference 技術將 OECM-1 細胞中之 DPP4 進行 knockdown，以 real-time PCR 及 western blot 確認其基因與蛋白表現受到抑制，且由 Cell migration assay 中發現，knockdown DPP4 之 OECM-1 細胞株有促進細胞轉移的現象。(* $p < 0.05$)

Figure 3.

(A)



(B)

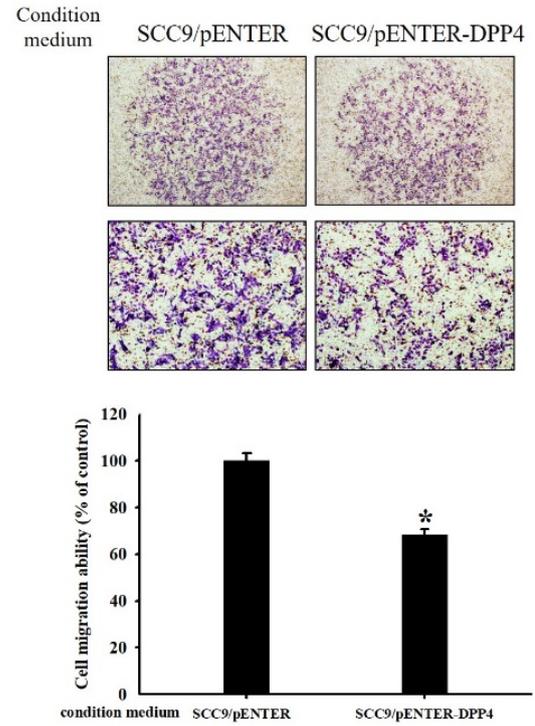


Figure 3. 分別收集培養過大量表現 LCN2 及 DPP4 之口腔癌細胞株培養液(condition medium)，將含有 LCN2 或 DPP4 之 condition medium 加在 Boyden chamber 的下層，將 SCC9 口腔癌細胞株種在 chamber 的上層，經過 24 小時培養。由實驗結果顯示，下層含有 LCN2 (A) 或 DPP4 condition medium (B) 之 SCC9 細胞，其細胞轉移之能力皆受到抑制且達統計意義。 (* $p < 0.05$)

Figure 4.

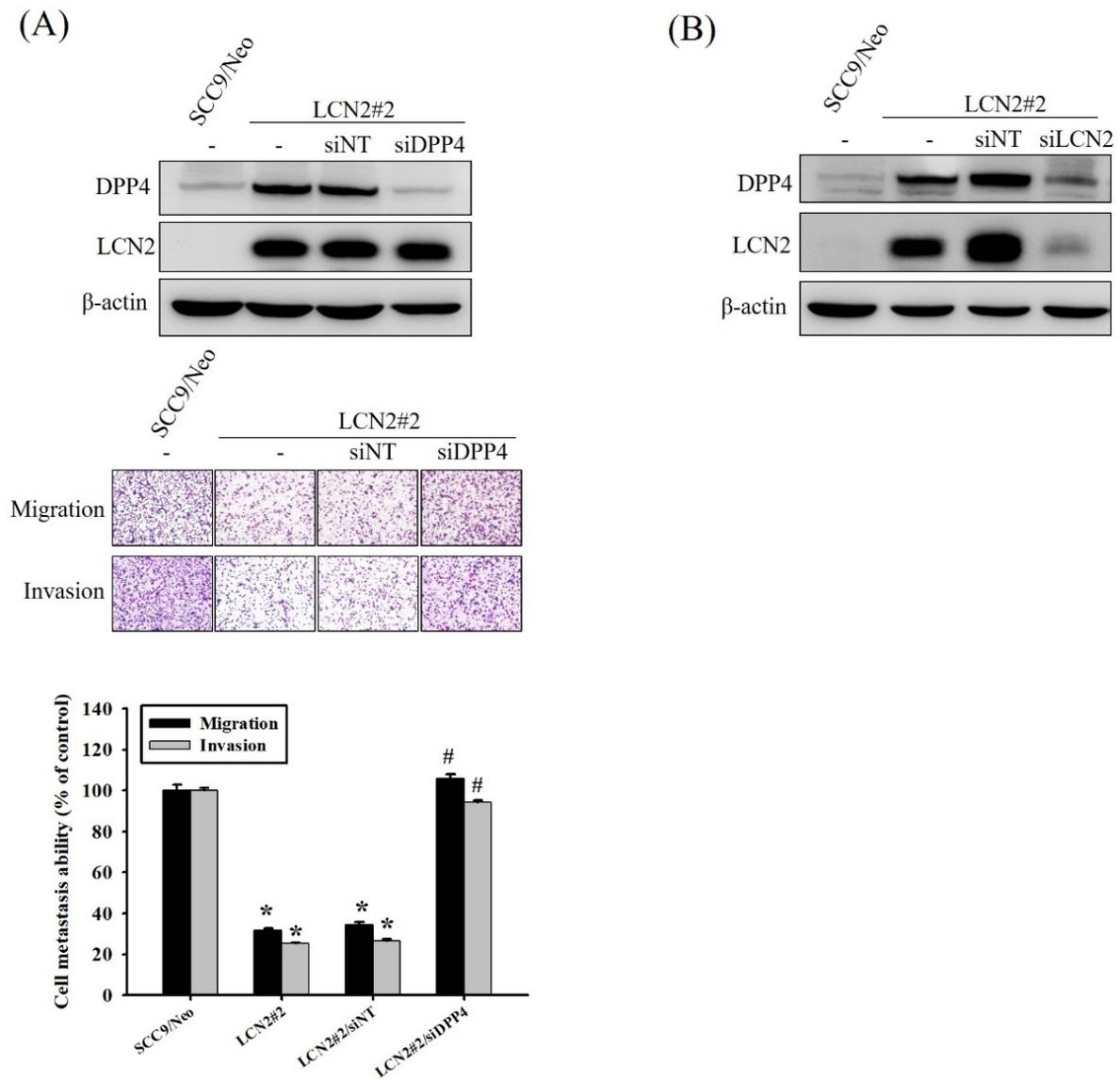


Figure 4. (A) 於 LCN2 stable clone (LCN2#2)中以 RNA interference 技術將 DPP4 knowndown 後，以 western blot 方式確認 DPP4 的蛋白表現量下降，且由 cell migration assay 中發現，DPP4 蛋白表現量受到抑制後其細胞轉移能力則有回復的情形並達統計意義；(B) 於 LCN2 stable clone (LCN2#2)中 RNA interference 技術將 LCN2 knowndown，以 western blot 方式發現 DPP4 蛋白表現量有下降的情形。(與 SCC9/Neo 組別相比，* $p < 0.05$ ；與 LCN2#2/siNT 組別相比 # $p < 0.05$)

Figure 5.

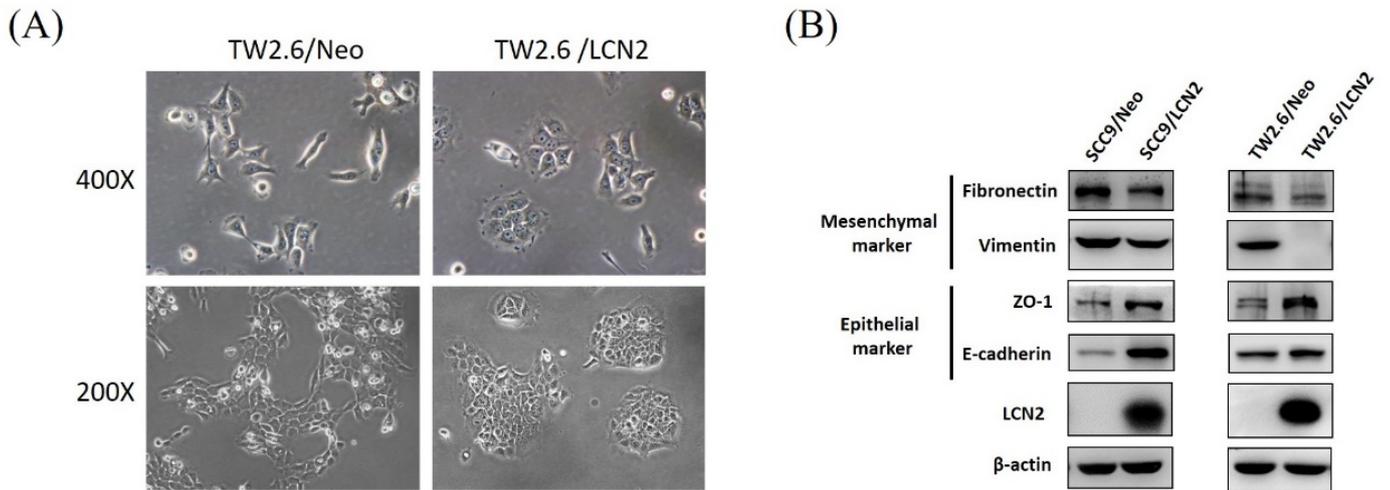


Figure 5. (A)於顯微鏡下觀察 TW2.6/Neo 及 TW2.6/LCN2 之細胞型態，結果發現，穩定表現 LCN2 之 TW2.6/LCN2 其細胞型態由間質細胞轉變為上皮細胞之樣貌，且以 western blot 方式分析 mesenchymal markers (fibronectin、vimentin)及 epithelial marker (E-cadherin、ZO-1)之蛋白表現量(B)。

Figure 6.

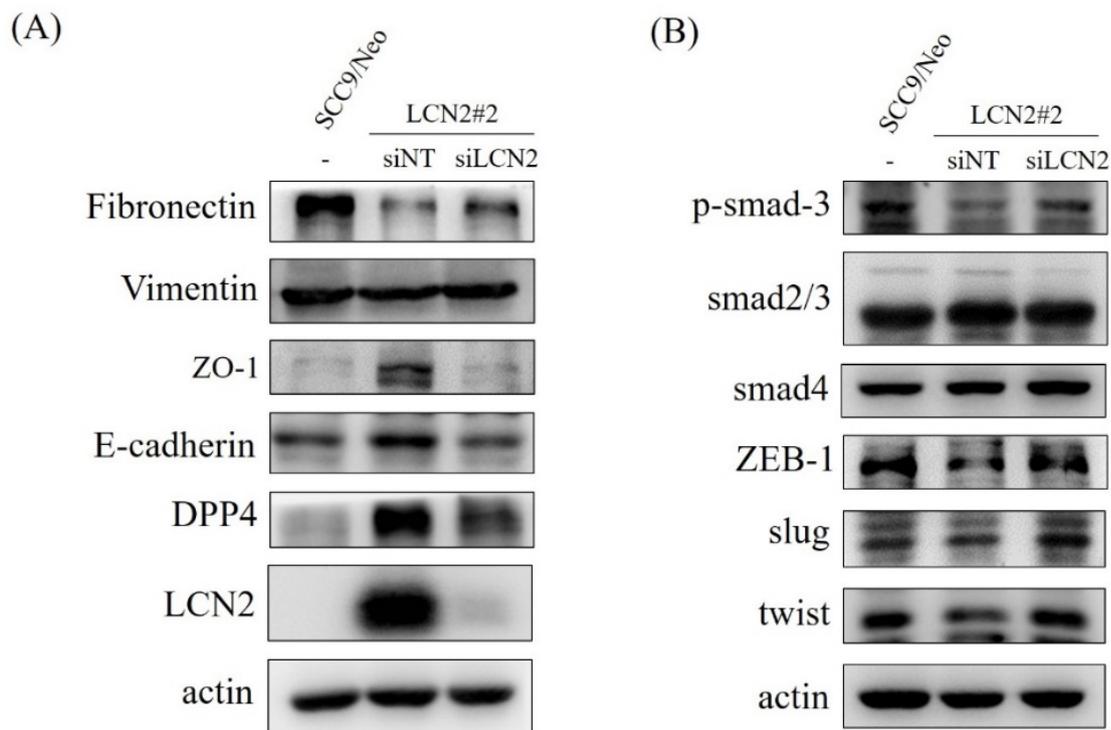


Figure 6. (A and B) 將 LCN2#2 以 RNA interference 技術將 LCN2 knowndown 後，以 western blot 方式分析 mesenchymal markers (fibronectin、vimentin、p-smad3、ZEB-1、slug、twist)及 epithelial marker (E-cadherin、ZO-1)之蛋白表現量。

Figure 7.

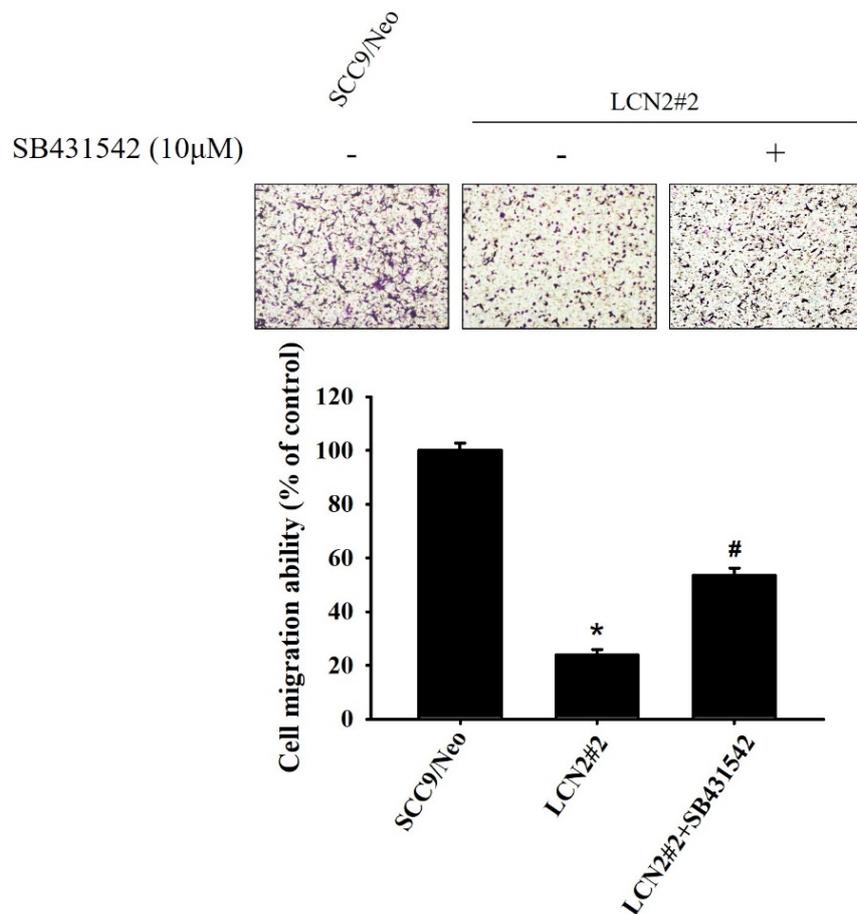


Figure 7. 將 LCN2 stable clone (LCN2#2)以 SB-431542 (TGF- β receptor kinase 之抑制劑)處理後，利用 cell migration assay 觀察口腔癌細胞轉移之能力。由實驗結果得知原本受抑制的轉移能力則有回復的情形且具統計意義。(與 SCC9/Neo 組別相比，* $p < 0.05$ ；與 LCN2#2 組別相比 # $p < 0.05$)

(四) 結論

過去的文獻指出 LCN2 在不同癌症部位可能做為 tumor suppressor gene 或 oncogene 的角色，而在先前研究則是發現 LCN2 的大量表現會抑制口腔癌細胞株轉移和侵襲的能力。為了解 LCN2 在抑制口腔癌細胞株侵襲和轉移中之調控機制，本研究利用 protease array 進行分析，在本實驗中首次發現 LCN2 對 DPP4 的調控能力，並證實了 LCN2 的大量表現會使 DPP4 之表現量增加，進而影響口腔癌細胞侵襲及轉移能力。進一步了解 LCN2 對 DPP4 的調控機制發現，LCN2 會透過增加 DPP4 的表現使口腔癌細胞侵襲及轉移之能力下降，同時經由抑制 TGF- β /ALK5/Smad pathway 路徑降低細胞轉移之間質型態標的物 (mesenchymal marker) 的表現。本研究結果釐清 DPP4 於 LCN2 抑制口腔癌細胞侵襲和轉移中所扮演的角色及作用機制且證實 DPP4 於口腔癌中扮演 tumor suppressor gene 的角色。

(五) 參考文獻

1. de Silva GK, Jayamaha JM, Gabriel A. Pattern and prevalence of oral carcinoma in a surgical unit at Cancer Institute Maharagama, 1985 to 1994. *The Ceylon medical journal*. 1995;40(4):146-7. Epub 1995/12/01. PubMed PMID: 8689702.
2. Scully C, Porter S. ABC of oral health. Oral cancer. *BMJ (Clinical research ed)*. 2000;321(7253):97-100. Epub 2000/07/07. PubMed PMID: 10884263; PubMed Central PMCID: PMCPMC1127769.
3. Bernards R, Weinberg RA. A progression puzzle. *Nature*. 2002;418(6900):823. Epub 2002/08/23. doi: 10.1038/418823a. PubMed PMID: 12192390.
4. Hynes RO. Metastatic potential: generic predisposition of the primary tumor or rare, metastatic variants-or both? *Cell*. 2003;113(7):821-3. Epub 2003/07/03. PubMed PMID: 12837240.
5. Kjeldsen L, Bainton DF, Sengelov H, Borregaard N. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel matrix protein of specific granules in human neutrophils. *Blood*. 1994;83(3):799-807. Epub 1994/02/01. PubMed PMID: 8298140.
6. Catalan V, Gomez-Ambrosi J, Rodriguez A, Ramirez B, Silva C, Rotellar F, et al. Increased adipose tissue expression of lipocalin-2 in obesity is related to inflammation and matrix metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 activities in humans. *J Mol Med (Berl)*. 2009;87(8):803-13. Epub 2009/05/26. doi: 10.1007/s00109-009-0486-8. PubMed PMID: 19466389.
7. Candido S, Maestro R, Polesel J, Catania A, Maira F, Signorelli SS, et al. Roles of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in human cancer. *Oncotarget*. 2014;5(6):1576-94. Epub 2014/04/20. doi: 10.18632/oncotarget.1738. PubMed PMID: 24742531; PubMed Central PMCID: PMCPMC4039233.
8. Yang J, Moses MA. Lipocalin 2: A Multifaceted Modulator of Human Cancer. *Cell Cycle*. 2009;8(15):2347-52. PubMed PMID: 19571677.
9. Berger T, Cheung CC, Elia AJ, Mak TW. Disruption of the Lcn2 gene in mice suppresses primary mammary tumor formation but does not decrease lung metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(7):2995-3000. Epub 2010/02/06. doi: 10.1073/pnas.1000101107. PubMed PMID: 20133630; PubMed Central PMCID: PMCPMC2840296.
10. Ding G, Fang J, Tong S, Qu L, Jiang H, Ding Q, et al. Over-expression of lipocalin 2 promotes cell migration and invasion through activating ERK signaling to increase SLUG expression in prostate cancer.

Prostate. 2015;75(9):957-68. Epub 2015/03/03. doi: 10.1002/pros.22978. PubMed PMID: 25728945.

11. Yang J, Bielenberg DR, Rodig SJ, Doiron R, Clifton MC, Kung AL, et al. Lipocalin 2 promotes breast cancer progression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(10):3913-8. Epub 2009/02/25. doi: 10.1073/pnas.0810617106. PubMed PMID: 19237579; PubMed Central PMCID: PMCPMC2656179.

12. Di Carlo A. Evaluation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and their complex MMP-9/NGAL in sera and urine of patients with kidney tumors. *Oncol Lett*. 2013;5(5):1677-81. PubMed PMID: 23760084.

13. Tschesche H, Zolzer V, Triebel S, Bartsch S. The human neutrophil lipocalin supports the allosteric activation of matrix metalloproteinases. *Eur J Biochem*. 2001;268(7):1918-28. Epub 2001/03/30. PubMed PMID: 11277914.

14. Zuo JH, Zhu W, Li MY, Li XH, Yi H, Zeng GQ, et al. Activation of EGFR promotes squamous carcinoma SCC10A cell migration and invasion via inducing EMT-like phenotype change and MMP-9-mediated degradation of E-cadherin. *J Cell Biochem*. 2011;112(9):2508-17. Epub 2011/05/11. doi: 10.1002/jcb.23175. PubMed PMID: 21557297.

15. Tong Z, Kunnumakkara AB, Wang H, Matsuo Y, Diagaradjane P, Harikumar KB, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel suppressor of invasion and angiogenesis in pancreatic cancer. *Cancer Res*. 2008;68(15):6100-8. Epub 2008/08/05. doi: 10.1158/0008-5472.can-08-0540. PubMed PMID: 18676832; PubMed Central PMCID: PMCPMC2714276.

16. Wang PH, Ko JL, Yang SF, Lin LY. Implication of human nonmetastatic clone 23 Type 1 and its downstream gene lipocalin 2 in metastasis and patient's survival of cancer of uterine cervix. *Int J Cancer*. 2011;129(10):2380-9. Epub 2011/03/29. doi: 10.1002/ijc.25936. PubMed PMID: 21442621.

17. Heike M, Mobius U, Knuth A, Meuer S, Meyer zum Buschenfelde KH. Tissue distribution of the T cell activation antigen Ta1. Serological, immunohistochemical and biochemical investigations. *Clinical and experimental immunology*. 1988;74(3):431-4. Epub 1988/12/01. PubMed PMID: 2466591; PubMed Central PMCID: PMCPMC1542019.

18. Nemoto E, Sugawara S, Takada H, Shoji S, Horiuchi H. Increase of CD26/dipeptidyl peptidase IV expression on human gingival fibroblasts upon stimulation with cytokines and bacterial components. *Infection and immunity*. 1999;67(12):6225-33. Epub 1999/11/24. PubMed PMID: 10569731; PubMed Central PMCID:

PMCPMC97023.

19. Mizutani S, Sumi S, Narita O, Tomoda Y. Purification and properties of human placental dipeptidyl peptidase IV. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai zasshi*. 1985;37(5):769-75. Epub 1985/05/01. PubMed PMID: 2860191.
20. Cheng HC, Abdel-Ghany M, Elble RC, Pauli BU. Lung endothelial dipeptidyl peptidase IV promotes adhesion and metastasis of rat breast cancer cells via tumor cell surface-associated fibronectin. *J Biol Chem*. 1998;273(37):24207-15. Epub 1998/09/03. PubMed PMID: 9727044.
21. Pethiyagoda CL, Welch DR, Fleming TP. Dipeptidyl peptidase IV (DPPIV) inhibits cellular invasion of melanoma cells. *Clin Exp Metastasis*. 2000;18(5):391-400. Epub 2001/07/27. PubMed PMID: 11467771.
22. Aytac U, Claret FX, Ho L, Sato K, Ohnuma K, Mills GB, et al. Expression of CD26 and its associated dipeptidyl peptidase IV enzyme activity enhances sensitivity to doxorubicin-induced cell cycle arrest at the G(2)/M checkpoint. *Cancer Res*. 2001;61(19):7204-10. Epub 2001/10/05. PubMed PMID: 11585756.
23. Kikkawa F, Kajiyama H, Ino K, Shibata K, Mizutani S. Increased adhesion potency of ovarian carcinoma cells to mesothelial cells by overexpression of dipeptidyl peptidase IV. *Int J Cancer*. 2003;105(6):779-83. Epub 2003/05/27. doi: 10.1002/ijc.11177. PubMed PMID: 12767062.
24. Kajiyama H, Shibata K, Ino K, Mizutani S, Nawa A, Kikkawa F. The expression of dipeptidyl peptidase IV (DPPIV/CD26) is associated with enhanced chemosensitivity to paclitaxel in epithelial ovarian carcinoma cells. *Cancer Sci*. 2010;101(2):347-54. Epub 2009/11/18. doi: 10.1111/j.1349-7006.2009.01378.x. PubMed PMID: 19917055.
25. Salamone M, Carfi Pavia F, Ghersi G. Proteolytic Enzymes Clustered in Specialized Plasma-Membrane Domains Drive Endothelial Cells' Migration. *PLoS One*. 2016;11(5):e0154709. Epub 2016/05/07. doi: 10.1371/journal.pone.0154709. PubMed PMID: 27152413; PubMed Central PMCID: PMCPMC4859482.
26. Khin EE, Kikkawa F, Ino K, Kajiyama H, Suzuki T, Shibata K, et al. Dipeptidyl peptidase IV expression in endometrial endometrioid adenocarcinoma and its inverse correlation with tumor grade. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188(3):670-6. Epub 2003/03/14. PubMed PMID: 12634639.
27. Moehrle MC, Schlagenhauff BE, Klessen C, Rassner G. Aminopeptidase M and dipeptidyl peptidase IV activity in epithelial skin tumors: a histochemical study. *J Cutan Pathol*. 1995;22(3):241-7. Epub 1995/06/01. PubMed PMID: 7593818.

28. Kehlen A, Lendeckel U, Dralle H, Langner J, Hoang-Vu C. Biological significance of aminopeptidase N/CD13 in thyroid carcinomas. *Cancer Res.* 2003;63(23):8500-6. Epub 2003/12/18. PubMed PMID: 14679016.
29. Fukasawa K, Harada M, Komatsu M, Yamaoka M, Urade M, Shirasuna K, et al. Serum dipeptidyl peptidase (DPP) IV activities in oral cancer patients. *International Journal of Oral Surgery.* 1982;11(4):246-50. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9785\(82\)80075-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0300-9785(82)80075-6).
30. Houghton AN, Albino AP, Cordon-Cardo C, Davis LJ, Eisinger M. Cell surface antigens of human melanocytes and melanoma. Expression of adenosine deaminase binding protein is extinguished with melanocyte transformation. *J Exp Med.* 1988;167(1):197-212. Epub 1988/01/01. PubMed PMID: 2891780; PubMed Central PMCID: PMCPMC2188806.
31. Morrison ME, Vijayasradhi S, Engelstein D, Albino AP, Houghton AN. A marker for neoplastic progression of human melanocytes is a cell surface ectopeptidase. *J Exp Med.* 1993;177(4):1135-43. Epub 1993/04/01. PubMed PMID: 8096237; PubMed Central PMCID: PMCPMC2190962.
32. Kajiyama H, Kikkawa F, Khin E, Shibata K, Ino K, Mizutani S. Dipeptidyl peptidase IV overexpression induces up-regulation of E-cadherin and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases, resulting in decreased invasive potential in ovarian carcinoma cells. *Cancer Res.* 2003;63(9):2278-83. Epub 2003/05/03. PubMed PMID: 12727850.
33. Kikkawa F, Kajiyama H, Shibata K, Ino K, Nomura S, Mizutani S. Dipeptidyl peptidase IV in tumor progression. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1751(1):45-51. Epub 2005/08/02. doi: 10.1016/j.bbapap.2004.09.028. PubMed PMID: 16054016.
34. Li Y, Li Z, Zhang J. Dipeptidyl peptidase IV reduces trophoblast invasion by inhibiting the activity of MMPs. *Int J Dev Biol.* 2014;58(5):349-53. Epub 2014/10/31. doi: 10.1387/ijdb.140016yl. PubMed PMID: 25354455.
35. Lin CW, Yang WE, Lee WJ, Hua KT, Hsieh FK, Hsiao M, et al. Lipocalin 2 prevents oral cancer metastasis through carbonic anhydrase IX inhibition and is associated with favourable prognosis. *Carcinogenesis.* 2016;37(7):712-22. Epub 2016/05/22. doi: 10.1093/carcin/bgw050. PubMed PMID: 27207653.

科技部補助專題研究計畫出席國際學術會議心得報告

日期：107 年 12 月 28 日

計畫編號	MOST 106-2314-B-040-027-		
計畫名稱	探討第四型二肽基肽酶及 miRNA-29 參與脂質載運蛋白抑制口腔癌細胞侵襲和轉移之分子機制		
出國人員姓名	楊惟恩	服務機構及職稱	中山醫學大學附設醫院 研究員
會議時間	107 年 6 月 30 日至 107 年 7 月 03 日	會議地點	荷蘭 阿姆斯特丹
會議名稱	(中文)第 25 屆歐洲癌症研究學會 (英文)25th Biennial Congress of the European Association for Cancer Research		
發表題目	(中文) 脂質載運蛋白會透過 miRNA-29a 所調控之第四型二肽基肽酶進而抑制口腔癌細胞之轉移 (英文) Lipocalin 2 suppress metastases of oral cancer through miRNA-29a-regulated dipeptidyl peptidase-4		

一、參加會議經過

歐洲癌症研究學會(EACR)為兩年一次且非常盛大的癌症年會,2018 年為第 25 屆歐洲癌症研究學會學術會議,今年於 6 月 30 日至 7 月 3 日在荷蘭阿姆斯特丹舉行。此次的壁報安排在 7 月 1 日 16:05~17:15 展示,展示期間除了與旁邊的壁報發表者互相討論彼此的研究外,也在會場遇到過去就讀博士班其間的

學長，交換了近幾年的研究心得及台灣的研究環境和狀況，而在壁報展示期間也同時在進行 Poster Spotlight Session，由大會選出幾個比較特別的壁報主題，由發表者將海報投影在螢幕上親自進行一個比較簡短的口頭發表及公開的討論，而最後兩天則是挑選比較少接觸的主題來參與。

二、 與會心得

歐洲癌症學會年會(EACR)為癌症研究領域中重要的學術會議之一，會議的規模、參與的人數及壁報的數量都非常的多且豐富，過去幾年比較常參與的會議為牙醫學領域的會議，不同以往的是這次的領域涵蓋的更廣泛，對於癌症研究的各個主題分成非常多的 subtitle，讓我可以透過細分的主題找到很多可能原本會錯失的研究，除了會議期間可與同是 EACR 的會員們交流外，回國後也可透過 EACR 網站的會員頁面繼續和其他國家的會員進行討論。除此之外，會議展場上也見到許多熟悉的廠牌，也發現許多廠商新開發的耗材可用做特殊的實驗需求，以及新型儀器的發表和應用，參加會議的主要目的不僅是發表自己的研究，更重要的是能和各方研究學者學習和交流獲得新的視野，藉此提升自己未來研究的深度及廣度。

三、 發表論文全文或摘要

Introduction: Lipocalin 2 (LCN2), a secreted glycoprotein, is up- or downregulated in different human cancers and it have been found to play a different role in tumorigenicity. Dipeptidyl peptidase IV (DPP4), a membrane-bound peptidase on the cell surface of a wide variety of cell types and plays an important role through enzyme activity. Several recent studies have shown that DPP4 affects tumor progression and invasion in several human malignancies. However, how LCN2 and DPP4 involved in tumor progression and metastasis in oral cancer have not been

studies yet.

Material and method: DPP4 expressed in LCN2 overexpression OSCC cells by protease array assay. MicroRNA array analysis and microRNA target prediction (TargetScan and PiTar) reveal that DPP4 is one of the target gene of miR-29 family.

Results and discussion: Overexpression of LCN2 in oral cancer cell lines reduced in vitro migration/invasion. Mechanistically, LCN2 inhibited the cell motility of oral cancer cells through transcriptional expression of the DPP4. Knockdown DPP4 in LCN2 overexpressed cell line significantly increased cell invasion and migration. Moreover, in oral cancer cells, LCN2 significantly decreased the levels of miRNA-29a, which increased the DPP4 expression. Overexpression of miRNA-29a significantly suppressed DPP4 expression and increased OSCC cell migration and invasion ($p < 0.05$).

Conclusion: We concluded that LCN2 suppresses oral cancer cell invasion and migration through miRNA-29a-regulated DPP4.

四、建議

無

五、攜回資料名稱及內容

1. 會議資料袋(含議程及會議內容)
2. 會場與海報之合照

六、其他

無

EACR 25

30 June - 3 July 2018 • Amsterdam

ESMO *Open*
Cancer Horizons

Abstracts of the 25th Biennial Congress of the European Association for Cancer Research

Amsterdam, The Netherlands, 30 June – 3 July 2018



ESMO

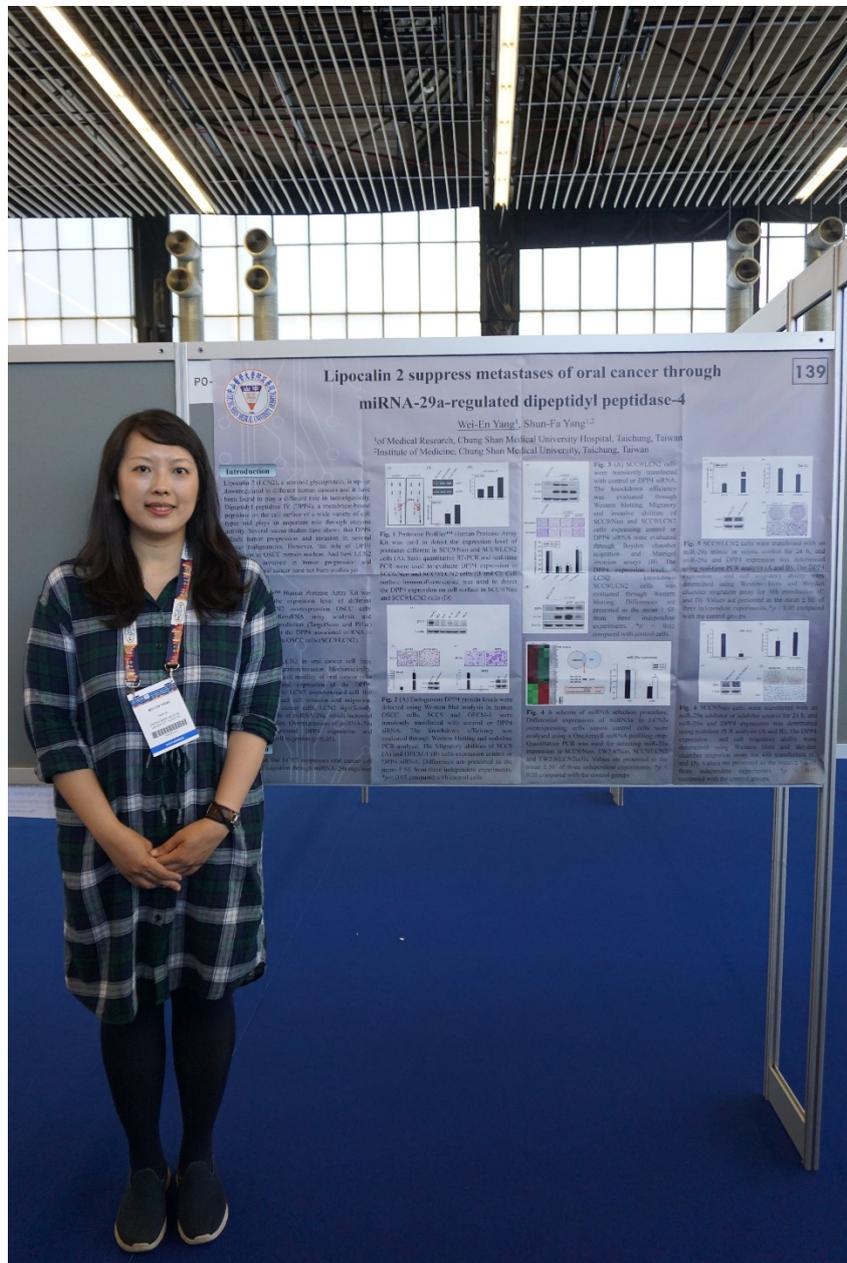
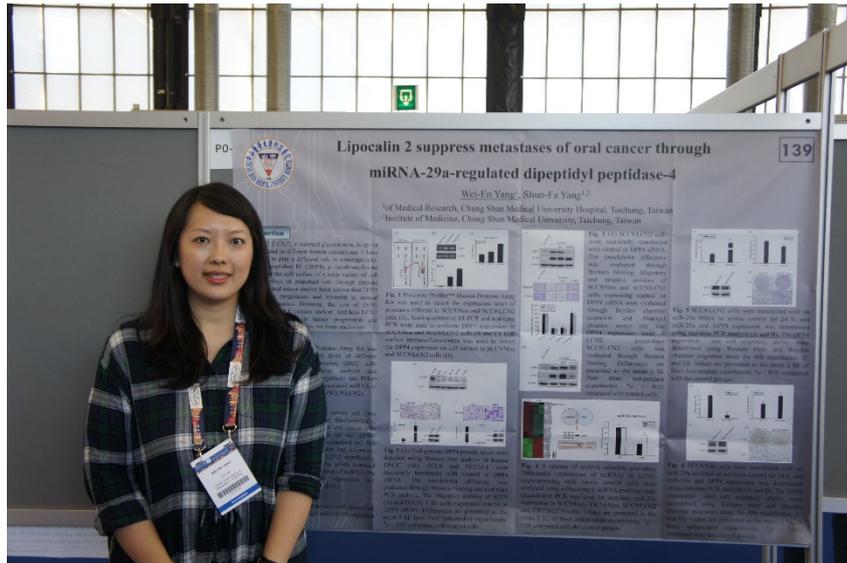
GOOD SCIENCE
BETTER MEDICINE
BEST PRACTICE

EACR25 - Scientific Programme Overview: "From Fundamental Insight to Rational Cancer Treatment"

Saturday 30 June 2018		Sunday 1 July 2018						
Auditorium		Elicitum 1	Elicitum 2	G102+103	G105	G106-107	Spotlight Area Hall 3	
9:00	Cancer Science for Oncologists Educational Sessions	Meet the Expert - Breast cancer inter- an intra-tumor heterogeneity landscapes C. Caldas (UK)	Meet the Expert - How should we comprehensively evaluate the Neovigenic and reactive T cell signature landscapes in cancer? Y. Shimada (IL)	Meet the Expert - Keeping your genome intact protects from cancer and aging J.H. Hoopmaier (NL)				
9:45	Understanding Mechanistic Principles How oncogenes bias state regeneration? G.T. Ermi (UK)							
9:45	Looking Into Tumors Imaging therapy failure E. Sitar (UK)							
10:30	Animal Models Identification of breast cancer drivers and therapy resistance mechanisms in mouse models J. Jonkers (NL)							
11:15	Coffee Break							
11:30	Tumour Evolution TP53/CEC and cancer evolution C. Swanton (UK)							
12:15	Understanding Informatics Learn a New Language Molecular predictors and how they impact therapy response L. Verselis (NL)							
13:00	Lunch							
14:00	Liquid Biopsies Liquid biopsies, Now and next. C. Dive (UK)							
14:45	Underlying Principles of Immunotherapy Eliciting T cells to attack cancer: the molecular basis J. Borra (NL)							
15:30	Microbiomes L. Zhong (FR)							
16:45	Opening / Opening Lecture Love and fear in the lab: a guide to talk about the emotional and subjective side of doing science? D. Akou (IL) 16:45-17:20							
17:30	Introduction to Oncops A. Larigouet (NL) R. Bernards (NL)							
18:20	Exhibitors' Reception							
7:30		Meet the Expert - Breast cancer inter- an intra-tumor heterogeneity landscapes C. Caldas (UK)	Meet the Expert - How should we comprehensively evaluate the Neovigenic and reactive T cell signature landscapes in cancer? Y. Shimada (IL)	Meet the Expert - Keeping your genome intact protects from cancer and aging J.H. Hoopmaier (NL)				
8:30		Tumour Heterogeneity and Evolution P. Swanton (UK) C. Kreuzer (UK) Z. Strohriova (DE) J. Drenth (IT) A. Sartorius (UK)	DNA Damage S.P. Jackson (UK) L. Kraus (NL) Z. Strohriova (DE) J. Drenth (IT) S. Nik-Zainal (UK)	Tumour Metabolism K. Vondra (UK) M. De Saatis (IT) E. Costello (IL) S. Bas (UK) G. Postma (FR)				
10:05		Response and Resistance in Cancer Immunotherapy T. Gajewski (US) F. Zhuo (DE) T. Schumacher (NL) D. Tasciote (ES) J. Squire (ES)	Tracking Cancer in the Solid Organ S. Miao (UK) M. Sacher (AT) S. Schreiber (NL) A. Bardelli (IT)	Epigenetics F. D'Hertefelt (IT) M. De-Matos-Arnisk (ES) A. Tany (IL) A. Molia-Sang (UK) M. Van Lubzen (NL)				
11:00								
12:35								
13:00								
14:30								
14:30		Models for Immunotherapy H. Seth (NL) L. Peim (USA) L. Fong (NL) B. Schlegel (NL) K. Rajapakse (DE)	The RAS Pathway and Cancer R. Marais (UK) J. Downward (UK) K. Mollaoglu (UK) J. Noh (NL) M. Barbacci (ES)	Telomere Microenvironment M. Saito (UK) M. Scher (UK) N. Eriz (IL) H. Rappaport (IL) S. Werner (Ch)				
16:05								
16:05								
17:30								
17:30								
18:05								
19:00								
Exhibition (Hall 3): 12:30 - 20:00		Coffee Break / Poster Viewing / Exhibition					Poster Viewing: 10:05 - 17:15	Exhibition: 10:00 - 17:15
		Lunch served / Poster Viewing / Exhibition					Sponsored Satellite Symposium	Sponsored Satellite Symposium
		Special Session - Challenging with the European Research Council					Special Session - Challenging with the European Research Council	Special Session - Challenging with the European Research Council
		EACR General Assembly and Awards Ceremony Followed by reception in TOPAZ Lounge					EACR General Assembly and Awards Ceremony Followed by reception in TOPAZ Lounge	EACR General Assembly and Awards Ceremony Followed by reception in TOPAZ Lounge
		Sponsored Exhibitor Spotlight					Sponsored Exhibitor Spotlight	Sponsored Exhibitor Spotlight
		Posters in the spotlight					Posters in the spotlight	Posters in the spotlight

This programme was approved on May 19th 2018.

申請者站在會場論文張貼處之照片



106年度專題研究計畫成果彙整表

計畫主持人：楊惟恩			計畫編號：106-2314-B-040-027-				
計畫名稱：探討第四型二肽基肽酶及miRNA-29參與脂質載運蛋白抑制口腔癌細胞侵襲和轉移之分子機制							
成果項目			量化	單位	質化 (說明：各成果項目請附佐證資料或細項說明，如期刊名稱、年份、卷期、起訖頁數、證號...等)		
國內	學術性論文	期刊論文		0	篇		
		研討會論文		0			
		專書		0	本		
		專書論文		0	章		
		技術報告		0	篇		
		其他		0	篇		
	智慧財產權及成果	專利權	發明專利	申請中	0	件	
				已獲得	0		
			新型/設計專利		0		
		商標權		0			
		營業秘密		0			
		積體電路電路布局權		0			
		著作權		0			
		品種權		0			
		其他		0			
	技術移轉	件數		0	件		
		收入		0	千元		
	國外	學術性論文	期刊論文		0	篇	
			研討會論文		1		
專書			0	本			
專書論文			0	章			
技術報告			0	篇			
其他			0	篇			
智慧財產權及成果		專利權	發明專利	申請中	0	件	
				已獲得	0		
	新型/設計專利		0				

		商標權	0		
		營業秘密	0		
		積體電路電路布局權	0		
		著作權	0		
		品種權	0		
		其他	0		
	技術移轉	件數	0	件	
		收入	0	千元	
參與計畫人力	本國籍	大專生	0	人次	
		碩士生	0		
		博士生	0		
		博士後研究員	0		
		專任助理	0		
	非本國籍	大專生	0		
		碩士生	0		
		博士生	0		
		博士後研究員	0		
		專任助理	0		
其他成果 (無法以量化表達之成果如辦理學術活動、獲得獎項、重要國際合作、研究成果國際影響力及其他協助產業技術發展之具體效益事項等，請以文字敘述填列。)					

科技部補助專題研究計畫成果自評表

請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況、研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性）、是否適合在學術期刊發表或申請專利、主要發現（簡要敘述成果是否具有政策應用參考價值及具影響公共利益之重大發現）或其他有關價值等，作一綜合評估。

1. 請就研究內容與原計畫相符程度、達成預期目標情況作一綜合評估

達成目標

未達成目標（請說明，以100字為限）

實驗失敗

因故實驗中斷

其他原因

說明：

2. 研究成果在學術期刊發表或申請專利等情形（請於其他欄註明專利及技轉之證號、合約、申請及洽談等詳細資訊）

論文： 已發表 未發表之文稿 撰寫中 無

專利： 已獲得 申請中 無

技轉： 已技轉 洽談中 無

其他：（以200字為限）

3. 請依學術成就、技術創新、社會影響等方面，評估研究成果之學術或應用價值（簡要敘述成果所代表之意義、價值、影響或進一步發展之可能性，以500字為限）

本計畫擬探討DPP4及miRNA-29參與脂質載運蛋白抑制口腔癌細胞侵襲和轉移之分子機制。口腔癌因具有高度侵襲性的特性，並且容易轉移到頸部淋巴結，導致患者預後差且存活率低。因此，於一年的研究計畫中，探討DPP4於口腔癌中所扮演的角色，且進一步了解DPP4參與在LCN2抑制口腔癌細胞侵襲和轉移的機制相當的重要，且透過釐清參與口腔癌轉移的分子機制，期望未來在口腔癌治療時可做為輔助治療標的及帶動癌症檢測的生技產值，提高口腔癌病患之癒後，讓大眾對治療多一份信心。

4. 主要發現

本研究具有政策應用參考價值： 否 是，建議提供機關

（勾選「是」者，請列舉建議可提供施政參考之業務主管機關）

本研究具影響公共利益之重大發現： 否 是

說明：（以150字為限）