

計畫編號：NHRI-EX97-9603BC

國家衛生研究院整合性醫藥衛生科技研究計畫

細胞核內致癌蛋白質ErbB-2對於腫瘤發展形成和癌轉移影響之探討

計畫名稱

97年度成果報告

執行機構：中國醫藥大學附設醫院

計畫主持人：李龍緣 副研究員

本年度執行期間：97年1月1日至97年12月31日

全文處理方式：二年後對外提供參考

本研究報告僅供參考用，不代表本院意見

目錄

項目	頁碼
壹、97 年度計畫研究成果摘要	1
貳、97 年度計畫著作一覽表	2
參、97 年度計畫重要研究成果產出統計表	3
肆、97 年度計畫重要研究成果	4
伍、97 年度計畫所培訓之研究人員	5
陸、參與 97 年度計畫所有人力之職級分析	6
柒、參與 97 年度計畫所有人力之學歷分析	7
捌、參與 97 年度計畫之所有協同合作之研究室	8
玖、97 年度計畫執行情形	9
拾、附錄	10
拾壹、97 年度之著作抽印本或手稿	11

壹、97年度計畫研究成果摘要

計畫名稱：細胞核內致癌蛋白質ErbB-2對於腫瘤發展形成和癌轉移影響之探討

計畫編號：NHRI-EX97-9603BC

執行機構：中國醫藥大學附設醫院

計畫主持人：李龍緣

研究人員：陳秀怡，謝逸憲，朱小璿

關鍵字：ErbB-2，酪胺酸激酶；受體，核易位，乳癌

成果分類： 癌症基礎與臨床研究(可複選，最多三項)

分子與基因醫學研究

臨床研究

生物技術與藥物研究

生物統計與生物資訊研究

醫療保健政策研究

環境衛生與職業醫學研究

醫學工程研究

老年醫學研究

精神醫學與藥物濫用研究

疫苗研究

幹細胞研究

奈米醫學研究

其他重要疾病或醫藥衛生問題研究

(1) 中文摘要

許多新證據顯示，傳統上被認為位在細胞膜表面的酪胺酸激酶受體 (receptor tyrosine kinases, RTKs) 卻被檢測出位在細胞核內。目前已有不同的研究團隊分別報告指出 nuclear RTKs 與乳癌病人及口咽癌病人之腫瘤惡性程度及低弱存活率密切相關。因此，根據這些研究證據，更進一步突顯出位於細胞核內的酪胺酸激酶受體在腫瘤發展過程中可能扮演著促進惡化的角色。再者，在許多人類乳癌組織及乳癌細胞株中 ErbB-2 也被發現在細胞核內表現。細胞核內的 ErbB-2 會結合並活化和腫瘤發展及癌轉移有關的 cyclooxygenase-2 基因的啟動子。因此推測細胞核內的 ErbB-2 亦會促進腫瘤惡化。我們之前的研究發現位於細胞膜表面的 ErbB-2 可經由 endocytosis 進入細胞質，並進一步和 nuclear import receptor importin β 1 及 nuclear pore protein Nup358 相互結合進入細胞核內。然而，對於原本嵌在細胞膜的 ErbB-2 如何從雙層脂質膜被釋放出、如何通過 nuclear pore complex (NPC) 以及 ErbB-2 在細胞核內的生物功能及重要性仍然不清楚。因此本計劃旨在探討 ErbB-2 核易位之分子機轉及在腫瘤發展和癌轉移之角色。

在本研究計畫執行的第二年，我們發現(1)在 96 年度報告中已提到，利用 mass spectrometry，我們發現許多 novel ErbB-2-interacting nuclear proteins。其中 β -actin 重複的被偵測到多次。有趣的是，傳統上 β -actin 被認為是位在細胞質中的蛋白質，但是許多研究指出 β -actin 也被偵測到在細胞核中表現。細胞核內的 β -actin 會和 RNA polymerase I (Pol I) 交互作用，並且在 RNA Pol I 轉錄時扮演必要的角色。因此我們主要集中於研究細胞核內 ErbB-2 和 β -actin 間的交互作用，及其在調控腫瘤發展中所扮演的角色。實驗結果顯示，nuclear ErbB-2 會和 β -actin/RNA Pol I 交互作用，增加 RNA Pol I 調

控的轉錄作用，進而影響腫瘤的發展。此部份的實驗結果正在整理撰寫論文中。(2) ErbB-2 會與內質網上 Sec61 channel 的 Sec61 α subunit 及 EDEM 交互作用。已知 Sec61 α 及 EDEM 會將 misfolded protein 由內質網上重新易位至 cytosol(稱為 ER-associated degradation pathway)。而我們的實驗結果也發現 Sec61 α 及 EDEM 在 ErbB-2 由內質網上易位至 cytosol 進而進入細胞核內的過程中亦扮演著重要的角色。這些研究結果顯示 ER-associated degradation pathway 有可能和 ErbB-2 核易位的調控有關。(3)先前的研究已證明 ErbB-2 可經由和位在 cytoplasmic filament 的 nuclear pore protein Nup358 結合通過 NPC 而易位至細胞核內。我們進一步證明 ErbB-2 也會分別和位在 NPC central core region 及 nuclear side 的 Nup62 及 Nup153 交互作用。利用 siRNA 降低 Nup62 及 Nup153 蛋白基因表達時，會抑制 ErbB-2 的核易位。我們將繼續探討 ErbB-2 如何通過 NPC 的分子調控機轉。

(2) 英文摘要

Growing evidences show that many receptor tyrosine kinases (RTKs), including ErbB-2, have repeatedly been detected in the nucleus despite RTKs are traditionally known as transmembrane cell surface proteins. In particular, it has been reported by different groups that nuclear RTKs are highly correlated with tumor grade and poor survival rate of patients with breast carcinomas or oropharyngeal squamous cell carcinomas. This evidence further highlights the important insights that nuclear RTKs potentially play more aggressive roles during tumor progression. Previous study showed that ErbB-2 is expressed in the nucleus in the primary human breast tumor tissues and human breast cancer cell lines. Nuclear ErbB-2 can bind to the promoter and transactivate transcription of cyclooxygenase-2 which has been known to be involved in tumor progression and metastasis, suggesting nuclear ErbB-2 may also contribute to the tumor malignancy. Our previous study further revealed the novel mechanism by which ErbB-2 enters the cytoplasm through endocytosis, and traffics across the cytoplasm via association with nuclear import receptor importin β 1 and endocytic vesicle, finally interacts with nuclear pore protein Nup358 to migrate into the nucleus. However, how the membrane-bound ErbB-2 can be released from the lipid bilayer and traverses through the nuclear pore complex, and the biological significances and functions of the nuclear ErbB-2 are yet obscure. Thus, the goal of this proposal is to elucidate these issues.

In the second year of funding period, several findings have been demonstrated (1) as mentioned in the Fiscal Year 96 final report, we have identified several novel ErbB-2-interacting nuclear proteins using mass spectrometry. In particular, one of the candidates, β -actin, was reproducibly detected. Intriguingly, β -actin is

traditionally considered as a cytoplasmic protein; however, β -actin has also been shown to localize in the nucleus. Nuclear β -actin can interact with RNA polymerase I (Pol I) and is required for RNA Pol I transcription. Thus, we focused on investigation of the interplay between nuclear ErbB-2 and β -actin. We have demonstrated that nuclear ErbB-2 interacts with β -actin/RNA Pol I and enhances RNA Pol I-mediated transcription and cell growth, which may contribute to tumorigenesis. **These results are currently under manuscript preparation.** (2) ErbB-2 interacts with endoplasmic reticulum (ER) proteins, Sec61 α , a subunit of Sec61 channel, and EDEM. Sec61 α and EDEM are known to mediate retrotranslocation of misfolded proteins in the ER to the cytosol (called ER-associated degradation pathway). We have demonstrated that Sec61 α and EDEM also play important roles in retrotranslocation of ErbB-2 to the cytosol and to the nucleus, suggesting part of ER retrotranslocation pathway is likely involved in nuclear trafficking of ErbB-2. (3) In addition to the Nup358 in the cytoplasmic filament of nuclear pore complex (NPC), ErbB-2 also interacts with Nup62 and Nup153, which localize to the central core region or nuclear side of NPC, respectively. Knocking down Nup62 or Nup153 using small interfering RNA oligonucleotides inhibit nuclear translocation of ErbB-2. The underlying mechanism by which ErbB-2 traverses through the NPC will be elucidated.

貳、97年度計畫著作一覽表

Journal

序號	計畫產出名稱	產出型式	Impact factor	致謝對象
1	Long-Yuan Li, Hsiu-Yi Chen, Yi-Hsien Hsieh, Hsiao-Juan Chu, Ying-Nai Wang, Yuh-Pyng Sher, Chien-Chen Lai, Huan-Chun Lien and Mien-Chie Hung Nuclear ErbB-2 enhances RNA Pol I transcription through interaction with b-actin and RNA Pol I. N/A 2009; (SCI) in Preparation	Foreign		NHRI

Patent

序號	計畫產出名稱
	無

Book

序號	計畫產出名稱
	無

Conference Paper

序號	計畫產出名稱
1	Long-Yuan Li, Hsiao-Juan Chu, Hui-Lung Sun and Mien-Chie Hung/ER-associated degradation pathway is involved in nuclear trafficking of ErbB-2/The 48th Annual Meeting of the American Society for Cell Biology/USA/NHRI-EX96-9603BC and NHRI-EX97-9603BC 2008

Technical Report

序號	計畫產出名稱
	無

參、97年度計畫重要研究成果產出統計表

註：群體/中心計畫者，不論是否提出各子計畫資料，都必須提出總計畫整合之資料
(係指執行97年度計畫之所有研究產出結果)

科技論文篇數		技術移轉			技術報告 0 項		
發表地點 類 型	國 內	國 外	類 型	經 費	項 數	技術創新 0 項	
期 刊 論 文	0 篇	0 篇	技 術 輸 入	0 千元	0 項	技術服務 0 項	
研 討 會 論 文	0 篇	1 篇	技 術 輸 出	0 千元	0 項	專利權	國內 0 項 國外 0 項
專 著	0 篇	0 篇	技 術 擴 散	0 千元	0 項	著作權	國內 0 項 國外 0 項

〔註〕：

期刊論文：指在學術性期刊上刊登之文章，其本文部份一般包含引言、方法、結果、及討論，並且一定有參考文獻部份，未在學術性期刊上刊登之文章（研究報告等）與博士或碩士論文，則不包括在內。

研討會論文：指參加學術性會議所發表之論文，且尚未在學術性期刊上發表者。

專 著：為對某項學術進行專門性探討之純學術性作品。

技術報告：指從事某項技術之創新、設計及製程等研究發展活動所獲致的技術性報告且未公開發表者。

技術移轉：指技術由某個單位被另一個單位所擁有的過程。我國目前之技術轉移包括下列三項：一、技術輸入。二、技術輸出。三、技術擴散。

技術輸入：藉僑外投資、與外國技術合作、投資國外高科技事業等方式取得先進之技術引進國內者。

技術輸出：指直接供應國外買主具生產能力之應用技術、設計、顧問服務及專利等。我國技術輸出方包括整廠輸出、對外投資、對外技術合作及顧問服務等四種。

技術擴散：指政府引導式的技術移轉方式，即由財團法人、國營事業或政府研究機構將其開發之技術擴散至民間企業之一種單向移轉（政府移轉民間）。

技術創新：指研究執行中產生的技術，且有詳實技術資料文件者。

技術服務：凡有關各項研究計畫之規劃與評審、技術督察與指導及專業技術服務事項等。

肆、97年度計畫重要研究成果

註：群體/中心計畫者，不論是否提出各子計畫資料，都必須提出總計畫整合之資料

計畫之新發現、新發明或對學術界、產業界具衝擊性(impact)之研究成果，請依性質勾選下列項目。

- 1. 研發或改良國人重要疾病及癌症的早期診斷方式及治療技術
- 2. 發展新的臨床治療方式
- 3. 發展新生物製劑、篩檢試劑及新藥品
- 4. 瞭解常見疾病及癌症之分子遺傳機轉
- 5. 瞭解抗癌藥劑對癌細胞之作用機制
- 6. 提供有效的疾病預防策略
- 7. 利用生物統計與生物資訊研究，推動台灣生技醫藥研究，促進生物技術與基因體醫學之發展
- 8. 醫療保健政策相關研究
- 9. 瞭解環境毒理機制及重金屬對人體健康的影響
- 10. 研發適合臨床使用的人造器官及生醫材料
- 11. 縮短復健流程並增加復健效果的醫療輔助方式或器材之研究應用
- 12. 改進現有醫療器材的功能或增加檢驗影像的解析能力
- 13. 其他重要疾病或醫藥衛生問題研究

- 一、計畫之新發現、新發明或對學術界、產業界具衝擊性 (impact) 之研究成果，請敘述其執行情形。

我們的研究結果發現，細胞核內的 ErbB-2 會和 β -actin/RNA Pol I 交互作用，增加 RNA Pol I 的轉錄反應，進而影響細胞的生長。目前已知 RNA Pol I 的大量轉錄活化與腫瘤的形成有關。因此，我們的新發現顯示細胞核內的 ErbB-2 可能可藉由調控 RNA Pol I 轉錄反應而影響到腫瘤的形成與發展。另外 ER-associated degradation pathway, Nup358, Nup62 及 Nup153 在 ErbB-2 通過 nuclear pore complex 核易位的過程中亦扮演著重要的角色。

- 二、計畫對民眾具教育宣導之研究成果 (此部份將為規劃對一般民眾教育或宣導研究成果之依據，請以淺顯易懂之文字簡述研究成果，內容以不超過 300 字為原則)

乳癌是台灣十大癌症死因中的第四大癌症，也是全世界婦女最常罹患的惡性腫瘤之一。目前臨床上用的癌症標靶藥物及治療方式並非對於所有的乳癌病人都有療效。在許多人類乳癌組織及乳癌細胞株中，ErbB-2 也被發現在細胞核內表現並與腫瘤發展及癌轉移有關。我們的研究成果發現細胞核內的 ErbB-2 可藉由調控 RNA Pol I 的轉錄反應，而影響到腫瘤的形成與發展。藉由深入研究瞭解 nuclear ErbB-2 核易位之分子機轉及在腫瘤發展和癌轉移之角色，可望從中研發有效的診斷與治療新方法。

三、簡述年度計畫成果之討論與結論，如有技術移轉、技術推廣或業界合作，請概述情形及成效

目前已知在腫瘤細胞內，RNA Pol I 的轉錄反應會大量增加，蛋白質的合成也會增加，與細胞轉譯反應有關的蛋白質表現亦出現異常調控。蛋白質合成的速率是決定細胞生長及增生的重要因子，當細胞的蛋白質合成反應，也就是轉譯反應調控失衡時，會促進細胞快速生長與增生，進而造成腫瘤的形成與發展。

我們的研究結果首次證明了細胞核內的 ErbB-2 可與 β -actin/RNA Pol I 交互作用，增加 RNA Pol I 的轉錄反應及細胞生長。這些結果顯示細胞核內的 ErbB-2 可能可藉由調控細胞的轉譯反應，而影響細胞癌化的進程。

四、成效評估（技術面、經濟面、社會面、整合綜效）

在本計畫執行的第二年，我們將重心著重於探討 nuclear ErbB-2 和 β -actin/RNA Pol I 間的交互作用，以釐清 nuclear ErbB-2 的生物功能及參與的致癌機轉。此部份實驗結果已接近完成，目前已開始整理撰寫論文中。

本實驗室為才剛成立第二年的新實驗室，感謝國家衛生研究院補助此研究計畫，使的本實驗室得以順利建立進行研究工作。目前許多研究材料、方法及分子細胞生物相關技術皆已建立。另外參與此計畫的研究助理從實驗中亦學習到各種不同的生物科學技術、實驗設計及遇到實驗困難時應如何解決的能力。

五、 下年度工作構想及重點之妥適性

下年度我們的重點將先集中於完成上述的 nuclear ErbB-2 和 β -actin/RNA Pol I 間的交互作用之研究，期望儘早將論文投稿於國外期刊。另外，亦繼續探討 ErbB-2 核易位的分子機轉及 nuclear ErbB-2 可能具有的新功能。

六、 檢討與展望

目前已有不同的研究團隊分別報告指出 nuclear RTKs 與乳癌病人及口咽癌病人之腫瘤惡性程度及低弱存活率密切相關。這些研究證據突顯出位於細胞核內的酪胺酸激酶受體在腫瘤發展過程中可能扮演著促進惡化的角色。本計畫希望藉由研究 nuclear ErbB-2 的生物功能及核易位機轉，瞭解 nuclear ErbB-2 調控細胞癌化的分子機制，有助於未來發展新的腫瘤診斷標記及新療法。

伍、97年度計畫所培訓之研究人員

註：群體/中心計畫者，不論是否提出各子計畫資料，都必須提出總計畫整合之資料

種類			人數	備註	
專任人員	1.	博士後	訓練中	0	
		研究人員	已結訓	0	
	2.	碩士級	訓練中	0	
		研究人員	已結訓	0	
	3.	學士級	訓練中	1	
		研究人員	已結訓	0	
	4.	其他	訓練中	2	此員非本計畫之專任人員 但有參與本計畫
			已結訓	0	
兼任人員	1.	博士班	訓練中	0	
			研究生	已結訓	0
	2.	碩士班	訓練中	0	
			研究生	已結訓	0
醫師		訓練中	0		
		已結訓	0		

特殊訓練課程（請於備註欄說明所訓練課程名稱）

人數	備註
1	Flowcytometry

陸、參與97年度計畫所有人力之職級分析

註：群體/中心計畫者，不論是否提出各子計畫資料，都必須提出總計畫整合之資料

職級	所含職級類別	參與人次
第一級	研究員、教授、主治醫師	0人
第二級	副研究員、副教授、總醫師、助教授	2人
第三級	助理研究員、講師、住院醫師	1人
第四級	研究助理、助教、實習醫師	1人
第五級	技術人員	0人
第六級	支援人員	0人
合計		4人

〔註〕：

第一級：研究員、教授、主治醫師、簡任技正，若非以上職稱則相當於博士滿三年、碩士滿六年、或學士滿九年之研究經驗者。

第二級：副研究員、副教授、助研究員、助教授、總醫師、薦任技正，若非以上職稱則相當於博士、碩士滿三年、學士滿六年以上之研究經驗者。

第三級：助理研究員、講師、住院醫師、技士，若非以上職稱則相當於碩士、或學士滿三年以上之研究經驗者。

第四級：研究助理、助教、實習醫師，若非以上職稱則相當於學士、或專科滿三年以上之研究經驗者。

第五級：指目前在研究人員之監督下從事與研究發展有關之技術性工作，且具備下列資格之一者屬之：具初（國）中、高中（職）、大專以上畢業者，或專科畢業目前從事研究發展，經驗未滿三年者。

第六級：指在研究發展執行部門參與研究發展有關之事務性及雜項工作者，如人事、會計、秘書、事務人員及維修、機電人員等。

柒、參與97年度計畫所有人力之學歷分析

註：群體/中心計畫者，不論是否提出各子計畫資料，都必須提出總計畫整合之資料

類別	學歷別	參與人次
1	博士	2人
2	碩士	1人
3	學士	1人
4	專科	0人
5	博士班研究生	0人
6	碩士班研究生	0人
7	其他	0人
合計		4人

捌、參與97年度計畫所有協同合作之研究室

註：群體/中心計畫者，不論是否提出各子計畫資料，都必須提出總計畫整合之資料

機構	研究室名稱	研究室負責人
無		

玖、九十七年度計畫執行情形

註：群體計畫(PPG)者，不論是否提出各子計畫資料，都必須提出總計畫整合之資料

一、請簡述原計畫書中，九十七年預計達成之研究內容

(1) 探究 ErbB-2 如何通過 nuclear pore complex 之分子機轉。

探討 ErbB-2 是否可經由與 Nup358、Nup62 及 Nup153 交互作用
通過 nuclear pore complex 進入細胞核內。

(執行期間: 96.1.1-97.12.31)

(2) 找尋細胞核內 ErbB-2 之新穎交互作用蛋白質及新標的基因。

(執行期間: 96.1.1-100.12.31)

(3) 探討細胞核內 ErbB-2 對於腫瘤發展形成和癌轉移之影響。

探討 nuclear ErbB-2 的生物功能及在腫瘤發展之角色。

(執行期間: 96.1.1-98.12.31)

二、請詳述九十七年度計畫執行情形，並評估是否已達到原預期目標（請註明達成率）

在上一年度中，利用 mass spectrometry，我們已發現許多 novel ErbB-2-interacting nuclear proteins，其中與 RNA Pol I 轉錄反應有關的 nuclear β -actin 亦被證明會和 nuclear ErbB-2 交互作用。因此我們將重點先集中於此部分，探討 nuclear ErbB-2/ β -actin/RNA Pol I 的交互作用，及其對細胞生物功能的影響，目前實驗已接近完成，已開始整理結果撰

寫論文中。在本研究計畫執行的第二年度，我們的研究結果已達到預期之目標，達成率為 100%。

拾、附錄

無

拾壹、著作抽印本或手稿

無