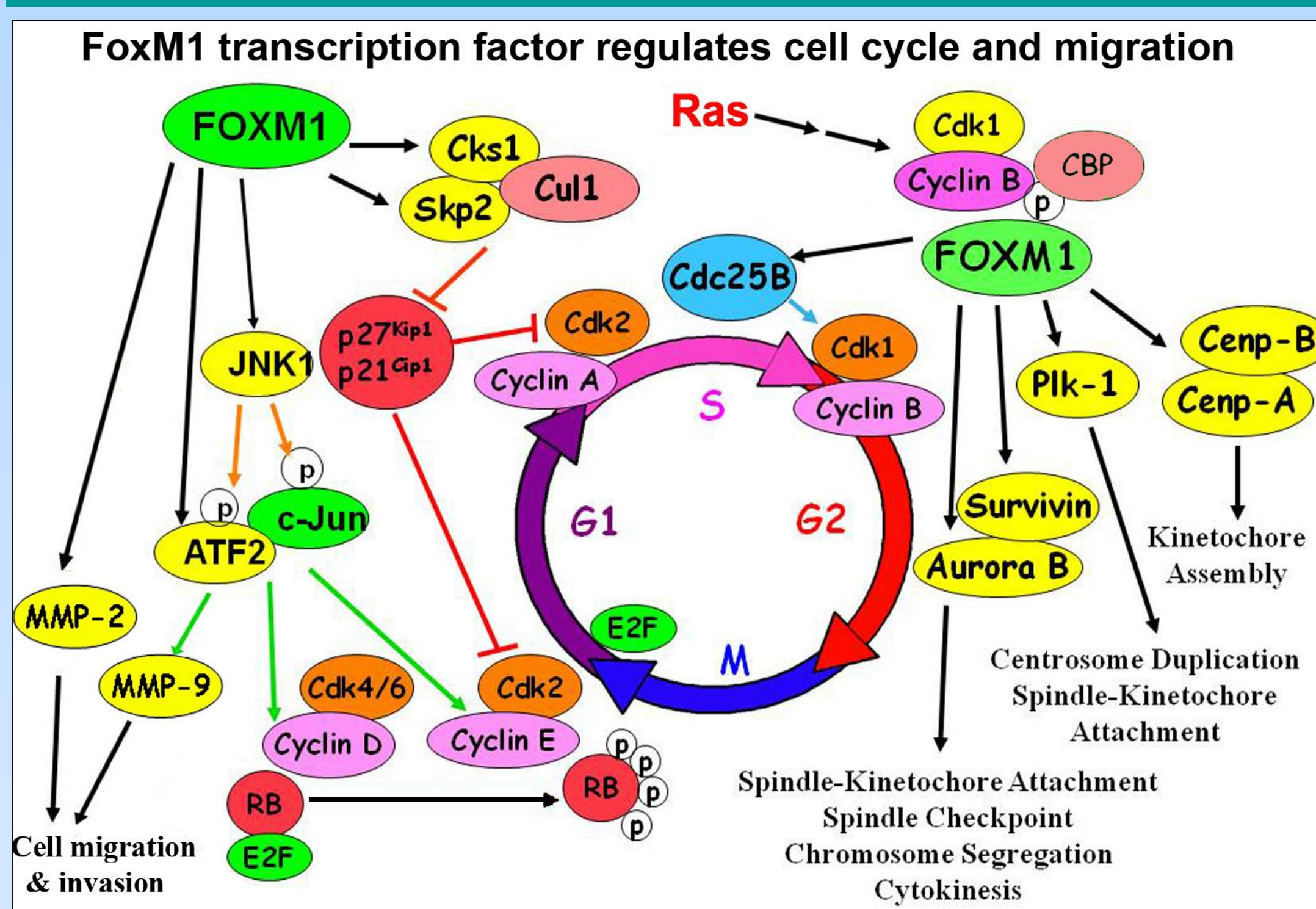


實驗室研究方向

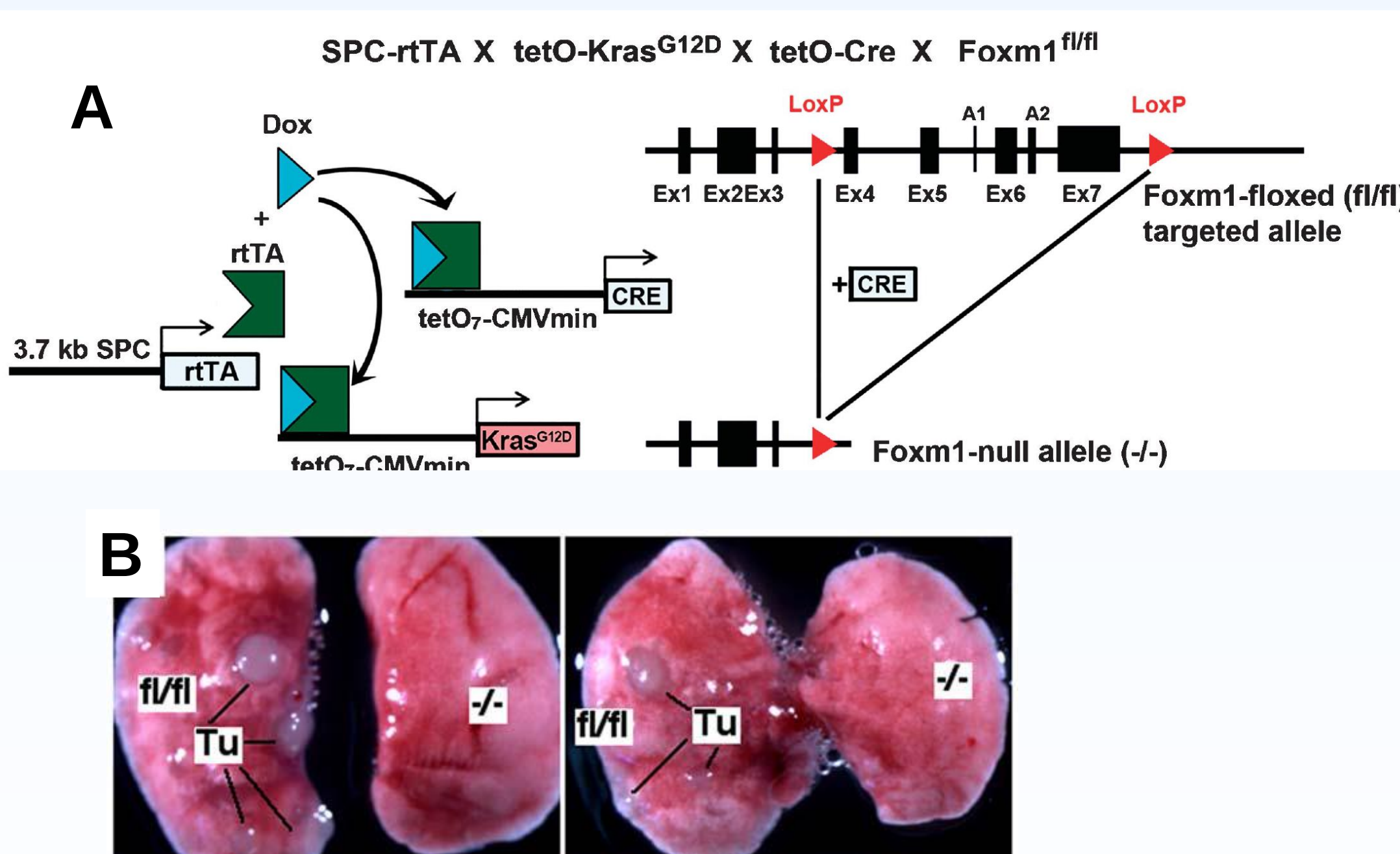
目前實驗室主要研究與細胞分裂息息相關的基因轉錄因子 **Forkhead Box m1 (Foxm1)** 如何調控細胞週期、細胞生長與癌化。運用基因轉殖 (Transgenic) 與剔除 (Gene Knockout) 小鼠動物模式，致力於了解 **Foxm1** 調控的下游基因及其與器官發育、癌細胞分裂增生的關聯。正常細胞分裂需要之 **Foxm1**，但是過量表現會造成器官不正常的發育且諸多癌症的發展密切相關。目前已知在肝癌、大腸直腸癌、乳癌、前列腺癌及卵巢癌等多種癌症中，**Foxm1** 的表現量均大量增高。我們過去的研究發現，若於成年小鼠肺臟上皮細胞中以基因轉殖方式表現活化態的 **Foxm1**，會造成細胞不正常增生，且促進肺癌細胞生長及惡化。反之，將 **Foxm1** 基因從肺臟上皮細胞中剔除，則會顯著地抑制由化學致癌物引發肺臟腫瘤的發生率及腫瘤大小。另外，於小鼠胚胎時期活化肺臟上皮細胞中的 **Foxm1** 蛋白質，則會造成肺臟上皮細胞增殖，以及細胞分化與肺臟發育的缺陷，與活性致癌基因 **K-Ras** 表癥類似。我們認為 **Foxm1** 及其下游基因可調控肺臟發育以及參與肺癌起始與進程，且為細胞分裂、分化及癌化訊號傳遞所必需，是極有潛力的癌症標靶治療目標。



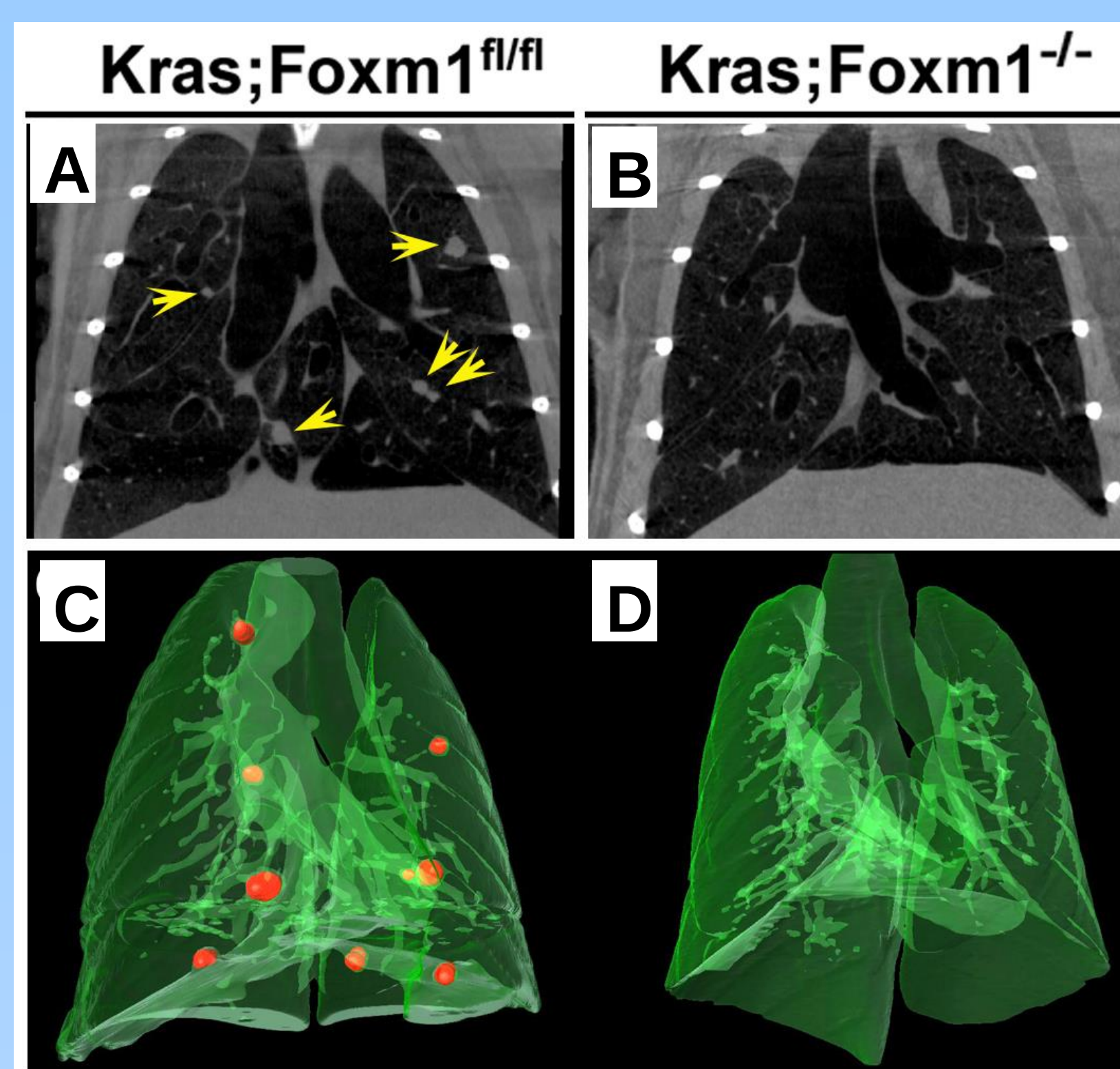
Forkhead box (Fox) 基因轉錄因子家族蛋白透過相似的氨基酸序列與基因的 promoter DNA 結合，並參與調控細胞分裂、分化、細胞轉型癌化及老化等過程。其中，家族中的成員 M1 亞型 (**FOXm1**) 蛋白表現於生長分裂中的細胞，並且調控細胞週期 G1/S 與 G2/M 進程，以及相關基因的轉錄表現以及相關基因的轉錄表現，這些基因包括有這些基因包括有 **JNK1**, **ATF2**, **DNA Topoisomerase IIa**, **Cks1**, **Skp2**, **Cdc25B**, **Plk-1**, **Aurora B** 及 **Cenp A/B/F** 等等(上圖)。

諸多研究指出諸多癌症中，如肝癌、肺癌、大腸直腸癌、胰臟癌、乳癌、卵巢癌等等，**Foxm1** 蛋白表現量均大幅增高且與癌化程度呈現正相關。過去我們已利用基因工程小鼠肺癌模式，發現剔除掉肺臟上皮細胞中 **Foxm1** 基因，可顯著地抑制由化學致癌物以及致癌基因所誘發肺腺癌。因此推論 **Foxm1** 為腫瘤起始及癌化進程所必需的重要蛋白。實驗室將繼續運用基因轉殖與基因剔除等小鼠動物模式，致力於了解活體中 **Foxm1** 蛋白調控肺臟發育、肺臟上皮損傷修補，以及肺癌訊號傳遞路徑的角色。同時發展以抑制 **Foxm1** 基因表現及蛋白活性控制癌細胞生長的策略。

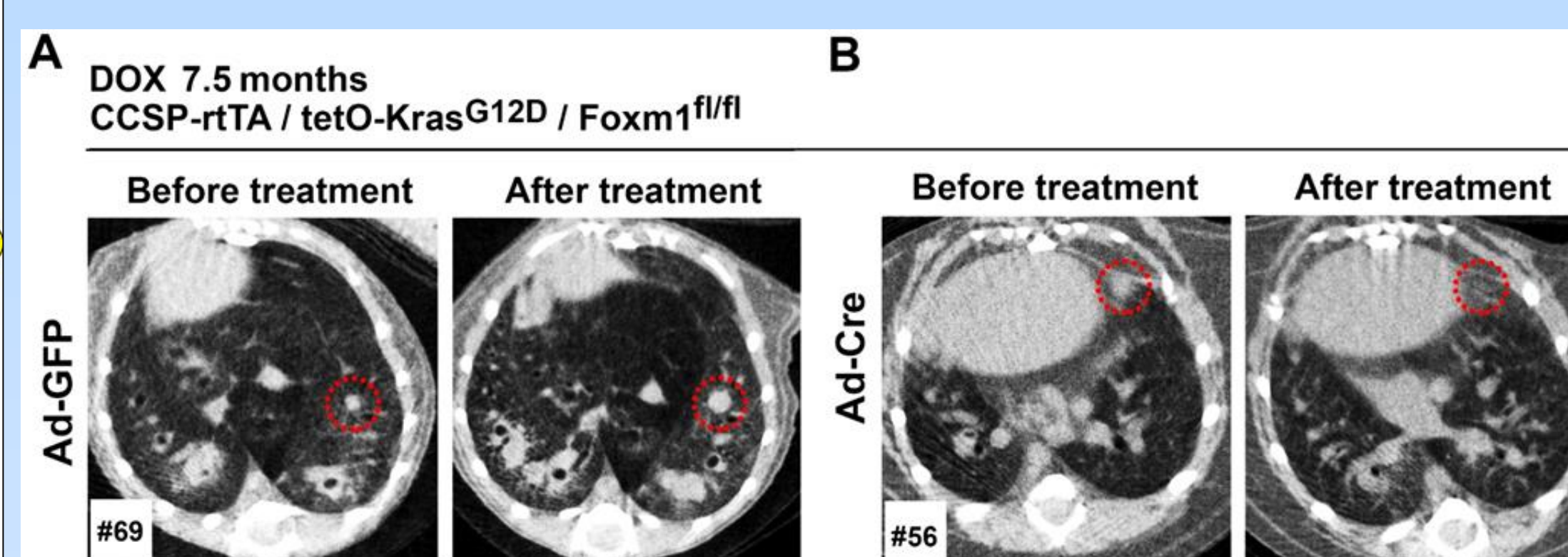
肺癌起始研究



利用基因工程小鼠肺癌模式探討癌症形成機制。(A) 利用基因工程小鼠，對小鼠肺臟上皮細胞中的 **Foxm1** 基因進行專一性的基因剔除。(B) 左圖所示為經致癌物 **urethane** 注射引發肺腫瘤的控制組 (fl/fl) 小鼠肺臟；右圖為剔除 **Foxm1** 後的實驗組小鼠肺臟 (-/-)。經剔除 **Foxm1** 基因的肺臟後對化學物 **urethane** 引發腫瘤形成具有抗性。推論抑制 **Foxm1** 可以對抗化學物誘發肺腫瘤形成。

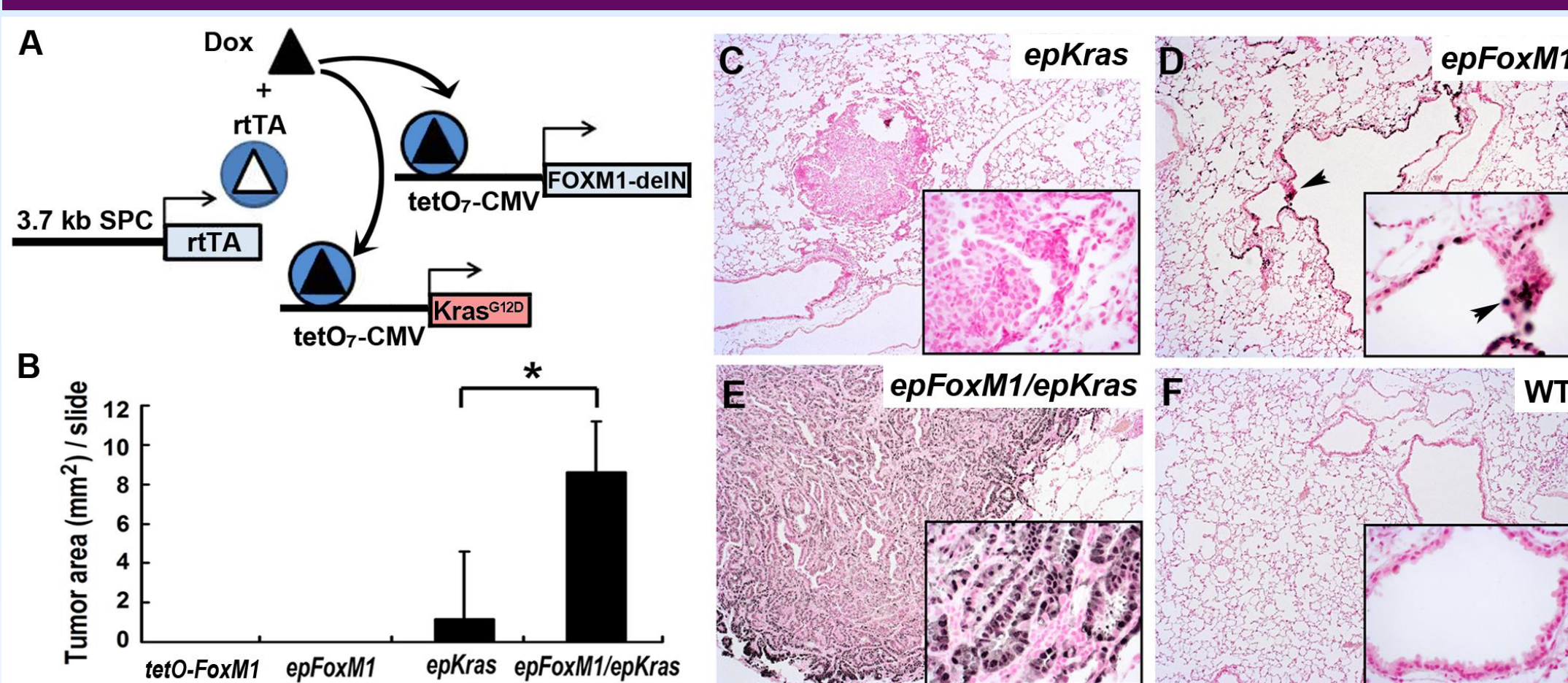


剔除小鼠肺臟上皮細胞中的 **Foxm1** 基因，可抑制致癌基因 **Kras** 誘發肺腺癌。(A) 微電腦斷層 (μCT) 影像顯示，**Kras;Foxm1^{fl/fl}** 小鼠經致癌基因 **Kras^{G12D}** 活化而引發出肺腺癌 (黃色箭頭指示)；(B) 剔除 **Foxm1** 後的實驗組小鼠肺臟 (**Kras;Foxm1^{-/-}**)，其對 **Kras** 引發腫瘤形成也有抗性。(C-D) 微電腦斷層掃描的小鼠肺臟重組影像顯示，肺腫瘤 (紅色) 的位置及大小；而剔除 **Foxm1** 基因的肺臟，雖受致癌基因 **Kras** 誘導，仍無法發育出腫瘤。

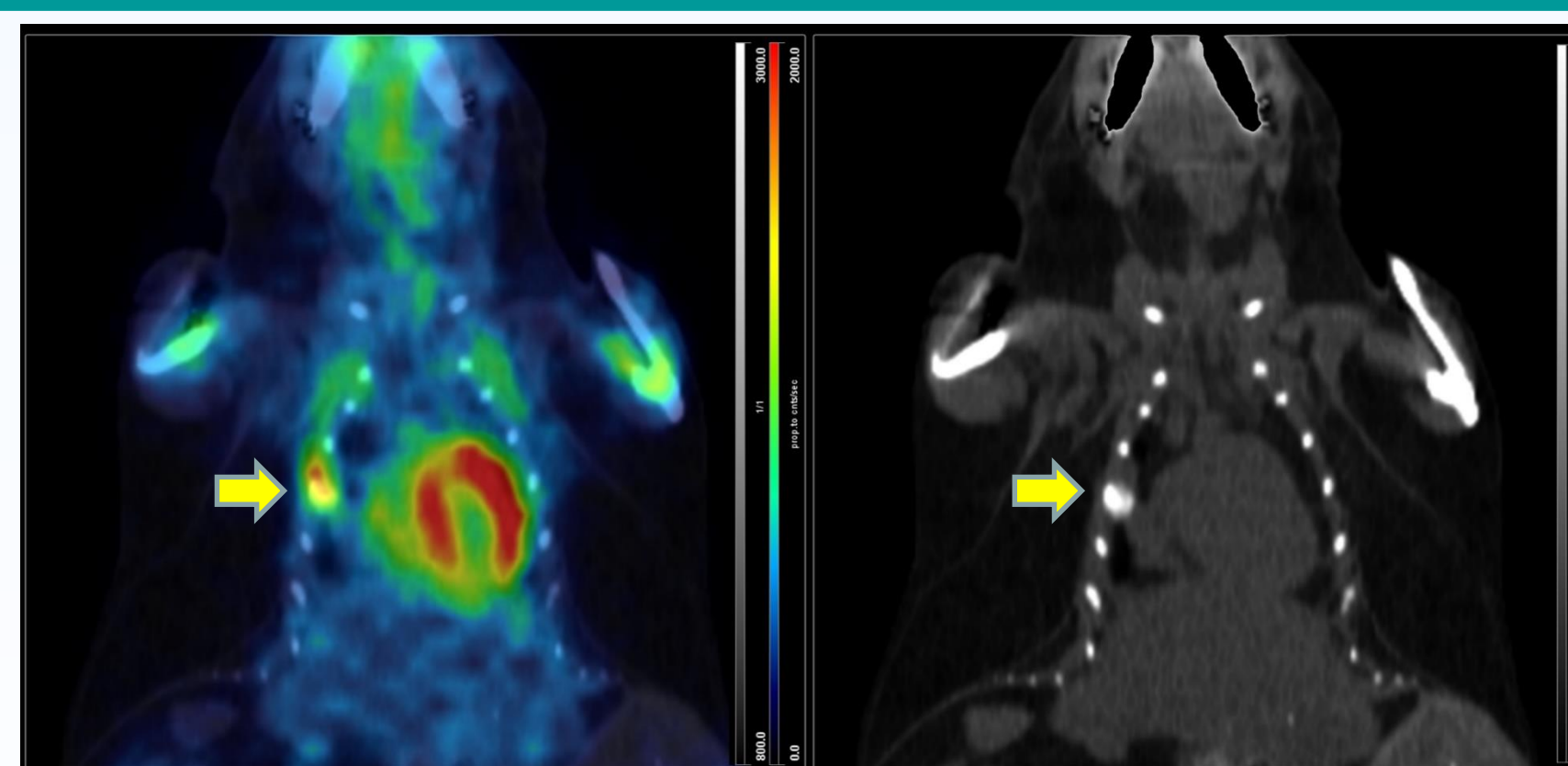


剔除小鼠肺臟肺腫瘤細胞的 **Foxm1** 基因，可抑制肺腺癌生長及維持。微電腦斷層 (μCT) 掃描影像顯示，**CCSP-Kras;Foxm1^{fl/fl}** 小鼠經致癌基因 **Kras^{G12D}** 活化而引發出肺腺癌 (紅色虛線圓圈) 後，再分別以 (A) **Ad-GFP** 腺病毒 (控制組) 及 (B) **Ad-Cre** 腺病毒感染。我們發現經 **Cre** 剔除 **Foxm1** 後的小鼠肺臟腫瘤萎縮變小，證明 **Foxm1** 是已形成的肺腫瘤維持生長所必須。我們認為 **Foxm1** 可以做為未來輔助臨床癌症治療的標的蛋白。

肺癌轉移研究

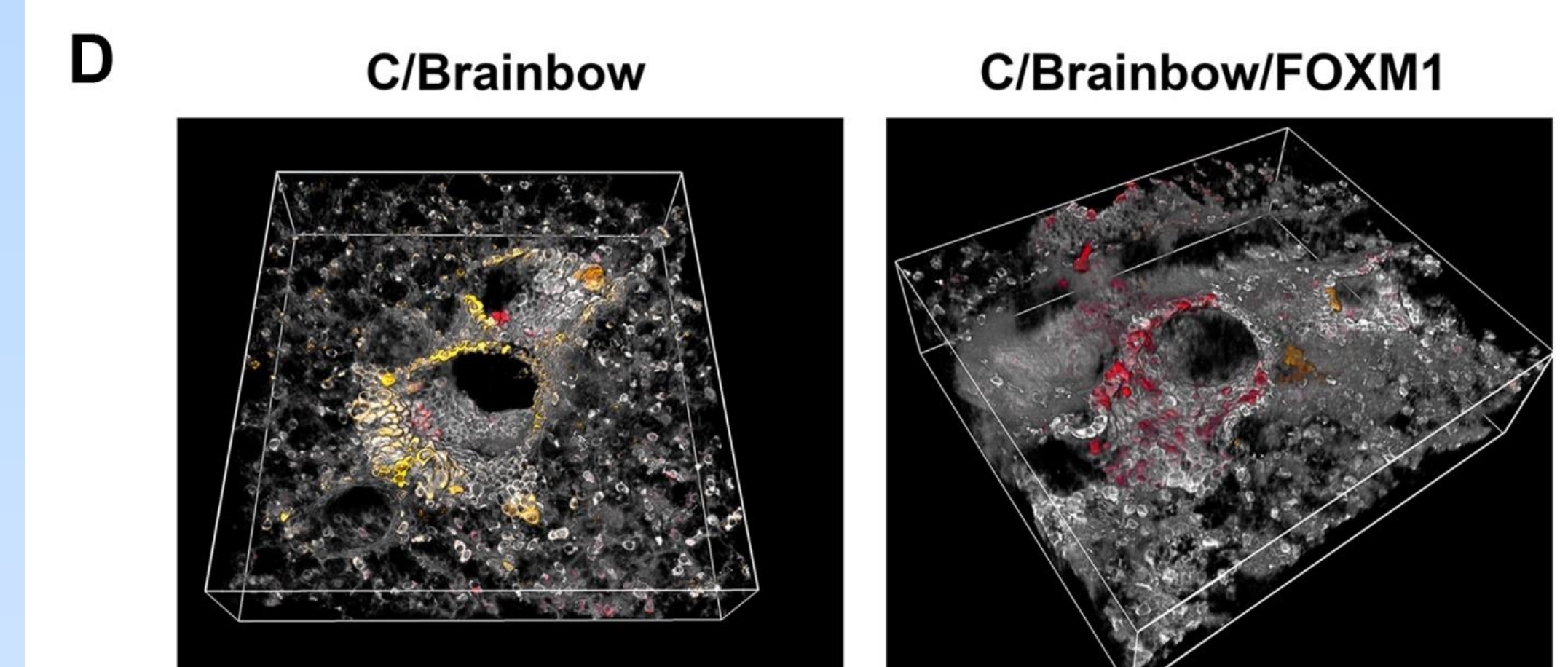
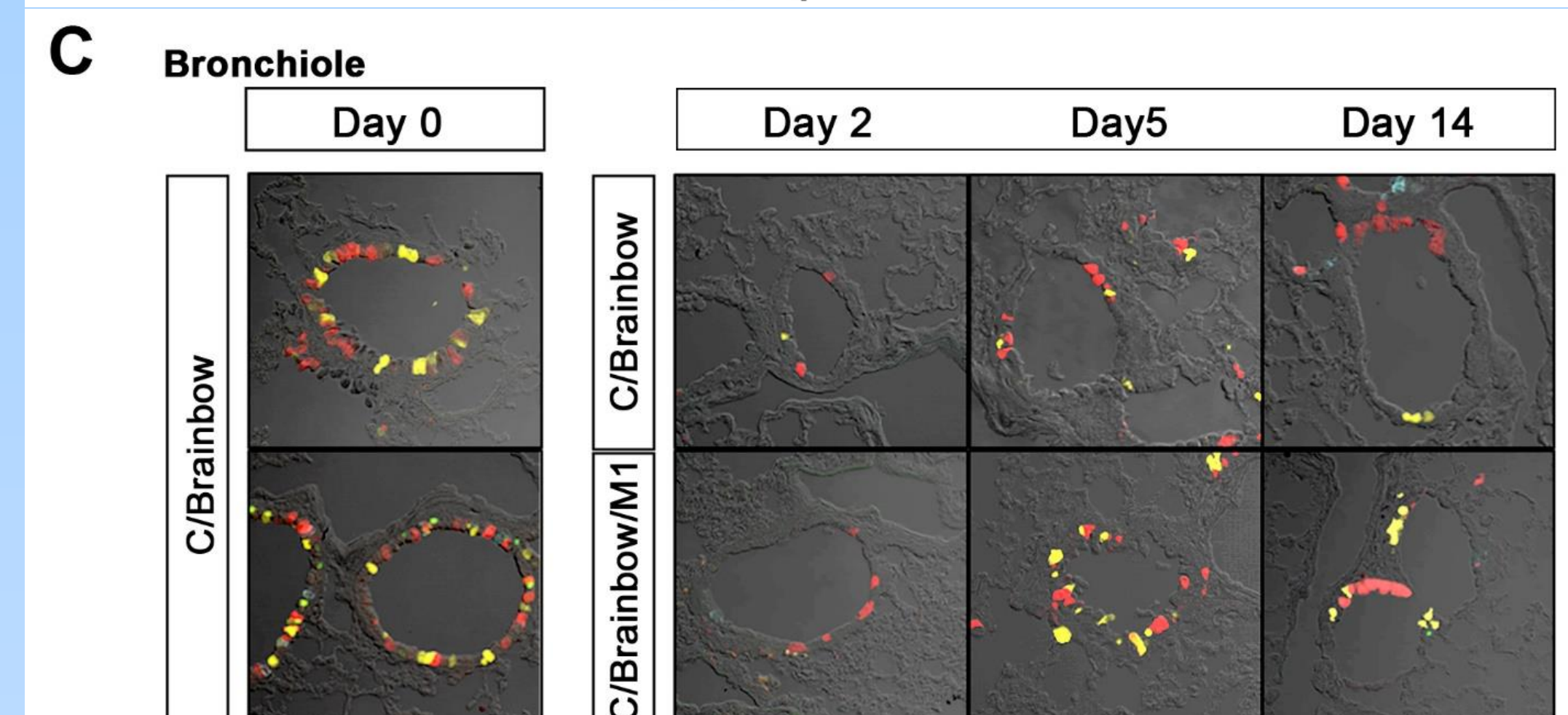
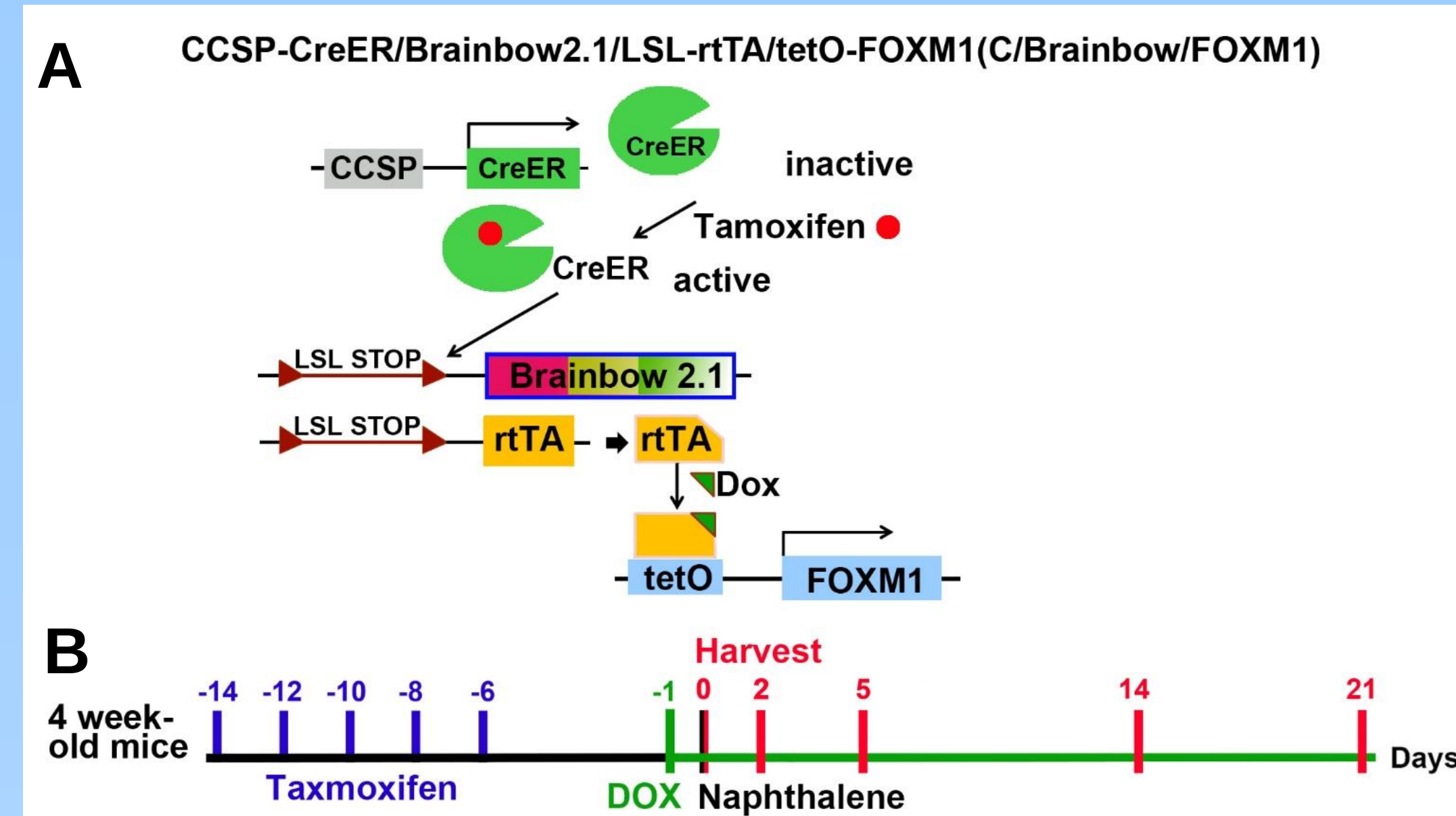


轉殖表現 **FOXm1** 基因可促進由致癌 **Kras** 基因所誘發之肺腫瘤進程及發展。(A) 利用 Tet-ON 系統，可條件式誘導表現致癌基因 **Kras^{G12D}** 及活化態的 **FOXm1** 轉殖基因表現於小鼠的肺臟上皮細胞，(B) 分析小鼠肺腫瘤發現，同時表現 **FOXm1** 及 **Kras** (**epFoxM1/epKras**) 所誘發的腫瘤比只表現 **Kras** 基因 (**epKras**) 的腫瘤顯著地增大。(C-F) 小鼠肺組織石蠟切片經免疫化學染色標出 **FOXm1-ΔN** 轉殖蛋白表現 (深褐色)，並輔以 nuclear fast red 對比染色 (紅色細胞核)。結果顯示單純表現 **FoxM1** 只會造成肺臟上皮增生 (D 圖箭頭所示)，並不足以誘發肺腫瘤形成。



表現致癌 **Kras** 及 **FOXm1** 並剔除抑癌基因所形成的複合基因工程小鼠模式，可誘發肺腺癌形成及並促進遠端轉移。我們於小鼠肺臟上皮細胞中專一性增量誘導表現 **Foxm1** 基因，除可以使癌化的肺臟上皮細胞快速生長，當移除抑癌基因後，更可促進肺腺癌細胞轉移。(左圖) 所示為正子攝影 (PET) 偵測到遠端肋骨的轉移肺癌細胞 (黃色箭頭所示)。(右圖) 為小鼠胸腔的微電腦斷層影像。我們認為 **Foxm1** 功能除可促進癌細胞生長外，也促進腫瘤細胞癌化及轉移。

肺臟上皮損傷修補及幹細胞研究



利用遺傳工程標定技術進行細胞譜系追蹤，研究小鼠肺臟幹細胞於活體內複製、分化及組織再生。(A) 利用 Tamoxifen 處理 **CCSP-cre/Brainbow** 基因工程小鼠後，可條件式誘導螢光蛋白表現於肺臟細支氣管上皮細胞並可被追蹤。(B) 經藥物誘發肺臟上皮損傷及幹細胞增生，我們就可以追蹤具螢光標示的細胞的後續分裂及分化情形。(C) 冷凍切片技術顯示螢光標示的肺臟上皮細胞。同源細胞呈現相同螢光顏色。(D) 透過組織澄清化技術，以共軛焦顯微鏡成像追蹤螢光標示細胞分布情形。轉殖表現 **FOXm1** 的肺幹細胞，可促進細胞增生及細支氣管上皮的損傷修復速度。

近期論文

- Kurahashi T et al., Forkhead Box M1 transcription factor drives liver inflammation linking to hepatocarcinogenesis in mice. **Cell Mol Gastroenterol Hepatol**. 2019 Oct 24. 9(3):425-446.
- Hsieh NT et al., MED28 and forkhead box M1 (FOXm1) mediate matrix metalloproteinase 2 (MMP2)-dependent cellular migration in human nonsmall cell lung cancer (NSCLC) cells. **Cell Physiol**. 2019 Jul;234(7):11265-11275.
- Sun et al., The FOXm1 inhibitor RCM-1 suppresses goblet cell metaplasia and prevents IL-13 and STAT6 signaling in allergen-exposed mice. **Sci Signal**. 2017 Apr 18;10(475). pii: eaai8583.
- Wang IC et al., FOXm1 Transcription Factor is Required for the Initiation of Lung Tumorigenesis by Oncogenic Kras^{G12D}. **Oncogene** 2014 Nov 13;33(46):5391-6.
- Balli D et al., Foxm1 transcription factor is required for lung fibrosis and epithelial-to-mesenchymal transition. **EMBO J**. 2013 Jan 23;32(2):231-44.
- Wang IC et al., Foxm1 Mediates a Cross-talk between Kras/MAPK and Canonical Wnt Signaling Pathways during Development of Respiratory Epithelium. **MCB**. 2012 Oct;32(19):3838-50.
- Unsityan V et al., Foxm1 transcription factor is critical for proliferation and differentiation of Clara cells during development of conducting airways. **Dev Biol**. 2012 Oct 15;370(2):198-212.

實驗室成員 (2020)

