

出國報告（出國類別：國際會議）

探討日本腦炎病毒感染的神經發炎及藥理治療策略

服務機關：臺中榮民總醫院醫學研究部

姓名職稱：陳春榮研究員

派赴國家：日本

出國期間：107/6/30~107/7/7

報告日期：107/7/16

摘要（含關鍵字）

關鍵字：日本腦炎病毒；神經發炎；神經傷害。

神經發炎反應是腦部病變常見的組織病理變化，包括免疫細胞浸潤、活化、發炎細胞激素表現。過度的神經發炎反應是造成神經傷害的重要原因。日本腦炎是由蚊子傳播的腦炎疾病，致病原是日本腦炎病毒（JEV）。日本腦炎的產生及進展與血腦屏蔽的病理學破壞和嚴重的神經發炎密切相關。研究顯示，這些免疫病理變化與日本腦炎的發病和疾病進展有良好相關性，也是治療控制的潛在標的。為了更了解致病過程並開發日本腦炎的預防治療方案，需要進一步研究 JEV 感染過程中潛在的神經發炎機制。本研究採用從 Sprague-Dawley 大鼠的大腦皮層製備含有 40% 神經元，40% 星狀神經膠細胞和 20% 微神經膠細胞的神經元/神經膠細胞、神經元細胞、微神經膠細胞為主要實驗模式。動物感染實驗則採用 C57BL/6 動物。JEV NT113 是從蚊子中分離的 JEV 病毒株，在 C6/36 細胞中繁殖，用於感染培養的細胞及動物。本研究結果發現：日本腦炎病毒感染所誘發的微神經膠細胞活化、發炎細胞激素表現、神經元細胞傷害，都伴隨著微神經膠細胞的 lipocalin 2 高表現。外源性 lipocalin 2 本身可活化微神經膠細胞及造成神經元細胞傷害，也可更加惡化日本腦炎病毒感染所造成的神經發炎及神經傷害。Lipocalin 2 的作用過程伴隨著 IRF8 及 KLF4 的活化。DHA 具有營養和藥物性質，具有廣泛的應用，已被證實具有神經保護作用，可降低抑制神經發炎及神經傷害。實驗發現，DHA 可降低日本腦炎病毒感染所誘發的發炎細胞激素表現、神經發炎、神經傷害。DHA 的免疫抑制作用與轉錄因子 AP-1、NF- κ B、CREB 活性抑制有關。目前的研究結果表明，日本腦炎病毒感染所誘發的神經發炎及神經傷害，一部份是透過微神經膠細胞高表現 lipocalin 2 來造成。而 DHA 可以透過降低神經發炎，進一步緩解 JEV 感染引起的神經毒性。日本藥理學會和日本臨床藥理暨治療學會於 7 月 1-6 日 2018 年，在日本京都舉辦第 18 屆基礎及臨床藥理世界年會。本研究計畫成果牽涉微生物感染、神經發炎及 DHA 營養保健產品，因此報名參加本次會議 Immunology, Inflammation and Bone metabolism 3 (免疫、發炎、骨代謝) 主題下的壁報演講報告。

目次

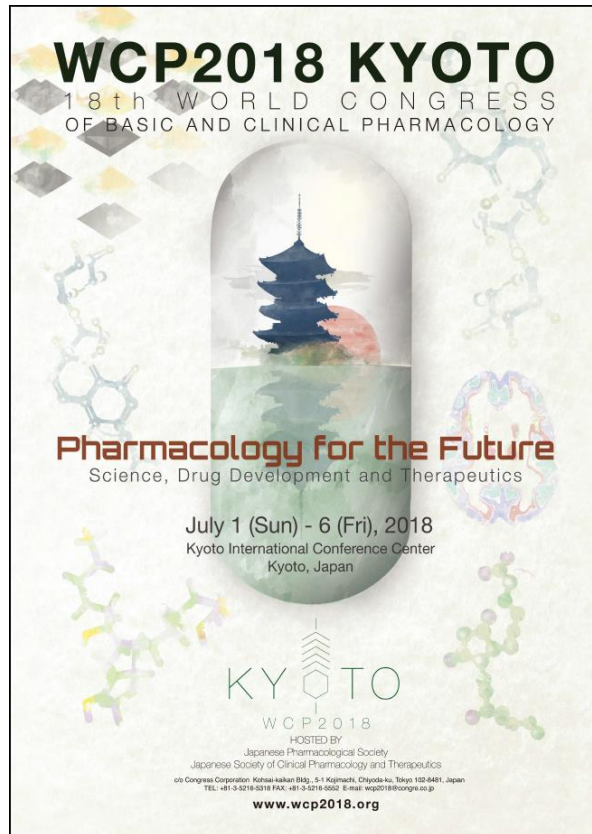
一、 目的	7
二、 過程	7
三、 心得	9
四、 建議事項（包括改進作法）	14
附錄	16

一、目的

日本藥理學會和日本臨床藥理暨治療學會於7月1-6日2018年，在日本京都舉辦第18屆基礎及臨床藥理世界年會。本研究計畫成果牽涉微生物感染、神經發炎及DHA營養保健產品，因此報名參加本次會議Immunology, Inflammation and Bone metabolism (免疫、發炎、骨代謝)主題下的壁報演講報告。發表探討日本腦炎病毒感染的神經發炎及藥理治療策略研究成果。除了發表我們研究成果發現外，也希望能吸收新知，增廣研究視野，提升往後研究能量。

二、過程

第18屆基礎及臨床藥理世界年會(18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, WCP2018)，主軸訴求”Pharmacology for the Future – Science, Drug development and therapeutics”。冀望藉由前瞻性不同領域的藥理研發，進而能開發潛在性藥物產品，增進人類的健康。下一次World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP2022)將於蘇格蘭舉行(2022年)。本次大會主席為Shuh Narumiya教授(Kyoto University, Japan)。於2018年7月1日至2018年7月6日，在日本京都國際會館(Kyoto International Conference Center)舉行。京都國際會館正是1997年減碳會議，簽訂京都議定書的地點。除了日本藥理學會和日本臨床藥理暨治療學會主辦外，包括台灣藥理學會(Pharmacological Society in Taiwan)及Chinese Pharmacological Society、Korean Society of Pharmacology、Pharmacological and Therapeutic Society of Thailand、Indian Pharmacological Society、Korean Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics、Australasian Society of Clinical and Experimental Pharmacologists and Toxicologists、Hong Kong Pharmacology Society、The Indonesian Society of Pharmacology、Pharmaceutical Society of Singapore等協辦。研討主題包括：Neuroscience、Pain、Cardiovascular system、Nephrology and Urology、Immunology, Inflammation and Bone metabolism、Gastrointestinal system、Stem cell medicine、Metabolism and Diabetes、Respiratory system、System biology、Education and Training、Sensory system、Cancer、Rare diseases、Molecular Bioimaging、Infection/Global infectious diseases、Natural medicine and Traditional East Asian Medicines、Regulatory Science、Pharmacovigilance、Health Economics、Toxicology、Genomics/Pharmacogenomics/Personalized medicine、Pharmacometrics、Pharmacokinetics、Pediatric Clinical Pharmacology、Industry-Academia collaboration等。參與的期刊有Journal of Pharmacological Sciences、British Journal of Pharmacology、British Journal of Clinical Pharmacology、Pharmacology Research & Perspectives。共有來自82個國家專家學者報名參加本次會議。約2700場次的口頭及壁報型式，演講報告。



大會海報



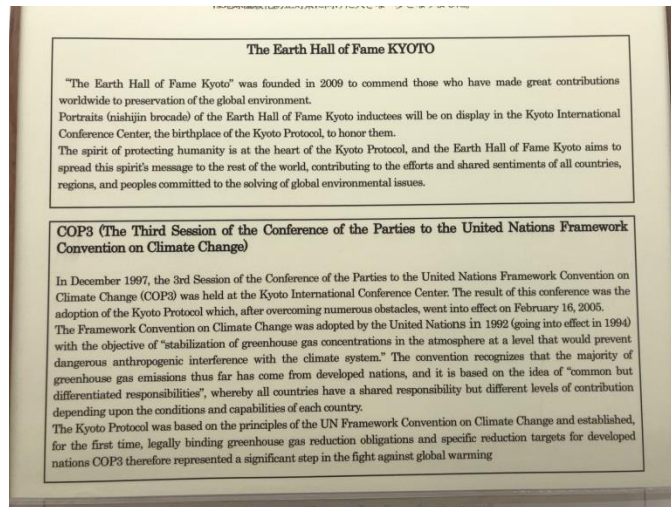
京都國際會館



京都國際會館



京都國際會館入口海報

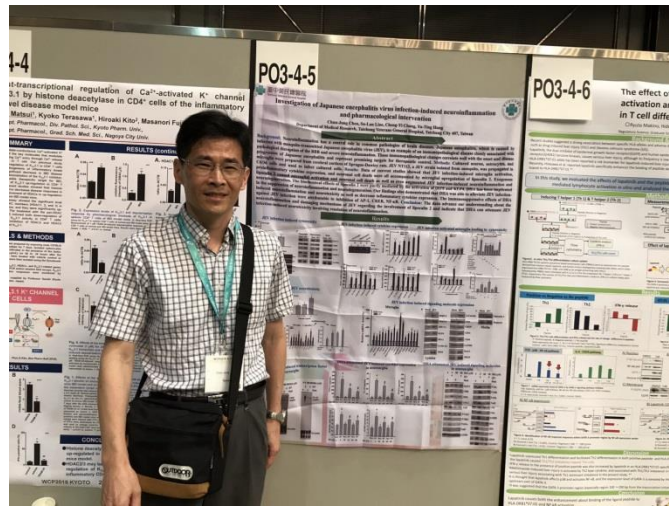


京都議定書

三、心得

這次會議本人所參加的研討主題為 Immunology, Inflammation and Bone metabolism。題目為探討日本腦炎病毒感染的神經發炎及藥理治療策略，以壁報報告方式呈現，時間安排在 7/4 議程。我們已陸續發表研究發現，日本腦炎病毒感染可直接誘發神經元細胞傷害，此外，藉由免疫細胞的活化及發炎細胞激素表現釋出，也可間接傷害神經元細胞。顯示，發炎反應是造成日本腦炎神經傷害的重要機制，而抗發炎策略可對抗日本腦炎傷害。科技部計畫執行衍生的結果發現，日本腦炎病毒感染體外培養的神經元/神經膠細胞，可誘發微神經膠細胞活化、發炎細胞激素表現、神經元細胞傷害。其中，lipocalin 2 為日本腦炎病毒感染過程所誘發表現的分子之一。外源性 lipocalin 2 可活化微神經膠細胞及造成神經元細胞傷害，進一步惡化日本腦炎病毒感染所造成的神經發炎及神經傷害。更發現，微神經膠細胞是因應日本腦炎病毒感染，產生 lipocalin 2 的主要細胞型態。日本腦炎病毒感染誘發 lipocalin 2 表現過程牽涉 IRF8 及 KLF4 轉錄因子。保健營養聖品之一的 DHA 具抗發炎效果。DHA 可緩解日本腦炎病毒感染所造成的神經發炎及神經元細胞傷害。神經保護過程中，微神經膠細胞的發炎細胞激素表現抑制及 AP-1、NF- κ B、CREB 轉錄因子抑制，是關鍵的作用機制之一。特藉由此一研討會，發表 lipocalin 2 在日本腦炎病毒感染過程，神經發炎及神經傷害的角色及 DHA 潛在的對抗日本腦炎傷害的研究發現。

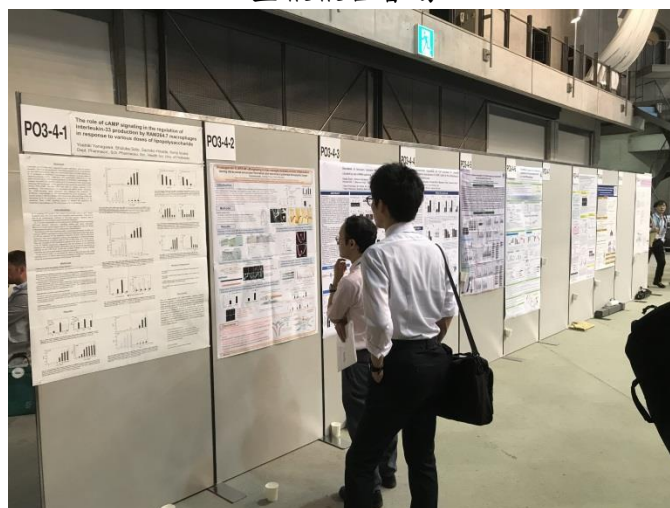
本次會議期間也遇到幾位台灣學者，包括台灣大學劉興華教授、陳憶乘教授，台北醫學大學蕭哲志教授，中山醫學大學張元衍教授、關宇翔教授等。其中，台灣藥理學會也有多位會員共同與會。



壁報報告會場合影



壁報報告會場



壁報報告會場

本次會議其它有興趣講題摘要：

一、 Future of cancer immunotherapy by PD-1 blockade (講者 Tasuku Honjo, Department of Immunology and genomic Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine, Japan)。

講者簡介癌症免疫治療的應用。PD-1/CTLA-4 等是免疫檢查點分子，與配體結合後會抑制免疫細胞活性。因此，PD-1/CTLA-4 抑制策略是癌症免疫治療的新興模式。但是，免疫治療策略仍會出現患者抗性問題。因此，合併治療便是解決問題的思考方向。講者特別介紹幾類合併治療的藥物，包括不同免疫檢查點抑制劑、放射線治療、化學治療、標靶治療藥物。特別是能量代謝藥物。合併能量代謝藥物似乎是理

想的免疫治療合併選項。

- 二、 Recent progress in iPS cell research and application (講者 Shinya Yamanaka, Center for iPS Cell Research and Application (CiRA), Kyoto University, Kyoto, Japan)。

iPS 是近年來熱門的議題，重要的細胞治療來源。除了細胞治療外，疾病模式、藥物開發、毒性分析等，也都是 iPS 應用範圍。而 iPS 技術更是現代客製化醫療關鍵的技術之一。講者除了介紹 iPS 的應用外，主要特色是介紹講者機構，透過 homologous HLA haplotypes super donor 來開發製備醫療等級 iPS 株。希冀能涵蓋所有日本族群。另也有現成 iPS 細胞株，也提供分化成各式細胞型態，包括β細胞。

- 三、 Advances in Genome Editing Technologies (講者 Feng Zhang, Board Institute of MIT and Harvard, Cambridge, USA/Department of Brain and Cognitive Sciences, McGovern Institute for Brain Research, USA/Department of Biological Engineering, Massachusetts Institute of Technology Cambridge, USA)。

基因體的剪接編輯越來越受重視。其中，CRISPR Cas9 分子剪刀更是關鍵的分子工具。Cas9 可應用於基因活化、基因抑制、染色體 DNA 修飾等。除了廣為所知的 Cas9 外，講者特別介紹關於 RNA 剪接編輯的分子工具。其中，Cas13 便是一種 RNA 剪接編輯分子。Cas13 可應用於抑制內源性 RNA 分子及可編輯的 RNA 結合平台。講者進一步更製備了 Cas13 與 adenine deaminase 融合分子，可執行 A-to-I 置換(簡稱 REPAIR)。REPAIR 已被證實可從 RNA 層級來改正單一鹼基的致病突變。預期，REPAIR 技術可應用於解決 neuron 及 post-mitotic 細胞方面的問題。

- 四、 The Cardiovascular Effects of Peptidase Inhibition (講者 Nancy J. Brown, Vanderbilt University Medical Center, USA)。

本講題主要介紹 angiotension-converting enzyme (ACE)與 dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) 間的互動，進而闡述 ACE 抑制劑及 DPP4 抑制劑臨床上的應用及瓶頸。ACE 抑制劑可抑制 Ang I 轉變成 Ang II 及強化 vasodilator/natriuretic hormone bradikinin 的心血管作用。DPP4 抑制劑可抑制 GLP-1 及 GIP 分子降解，達到 T2DM 的臨床治療效果。臨床上，GLP-1 可觀察到臨床效益。但是，DPP4 抑制劑似乎對於體重及急性冠狀風險，影響不大。甚至會增加心臟衰竭風險。原因發現，DPP4 抑制劑除了可影響 GLP-1/GIP 降解外，substance P、neuropeptide Y、polypeptide Y、growth hormone releasing hormone 等，也會受到影響。發現，substance P 也是 ACE 受質之一。DPP4 抑制劑會降低 ACE 抑制劑的心血管效益。因此，peptidase 相關藥物的使用，應特別注意。

發表論文全文或摘要

Investigation of Japanese encephalitis virus infection-induced neuroinflammation and pharmacological intervention

Chun-Jung Chen, Su-Lan Liao, Cheng-Yi Chang, Yu-Ting Hung

Department of Medical Research, Taichung Veterans General Hospital, Taichung City 407, Taiwan

Background: Neuroinflammation has a central role in common pathologies of brain diseases. Japanese encephalitis, which is caused by infection with mosquito-transmitted Japanese encephalitis virus (JEV), is an example of an immunopathological disease closely associated with pathological disruption of the BBB and severe neuroinflammation. Those immunopathological changes correlate well with the onset and disease progression of Japanese encephalitis and represent promising targets for therapeutic control.

Methods: Cultured neuron, astrocytes, and microglia were prepared from cerebral cortices of

Sprague-Dawley rats. JEV NT113, a JEV strain isolated from mosquito, was propagated in C6/36 cells and used to infect cultured cells.

Results: Data of current studies showed that JEV infection-induced microglia activation, proinflammatory cytokine expression, and neuronal cell death were all accompanied by microglial upregulation of lipocalin 2. Exogenous lipocalin 2 caused microglial activation and neuronal cell death as well as even augmented JEV infection-induced neuroinflammation and neurodegeneration. The biochemical effects of lipocalin 2 were partly mediated by the activation of IRF8 and KLF4. DHA has been implicated in the suppression of neuroinflammation and neurodegeneration. Our findings also demonstrated that DHA was able to alleviate JEV infection-induced neuroinflammation and neurotoxicity as well as decrease inflammatory cytokine expression. The immunosuppressive effects of DHA against JEV infection were attributable to inhibition of AP-1, CREB, NF- κ B.

Conclusion: The data advance our understanding about the neuroinflammation and damaging mechanisms of JEV regarding the involvement of lipocalin 2 and indicate that DHA can attenuate JEV infection-induced neurotoxicity involving resolution of neuroinflammation.

Keyword : Japanese encephalitis virus; Neuroinflammation; Neuronal damage

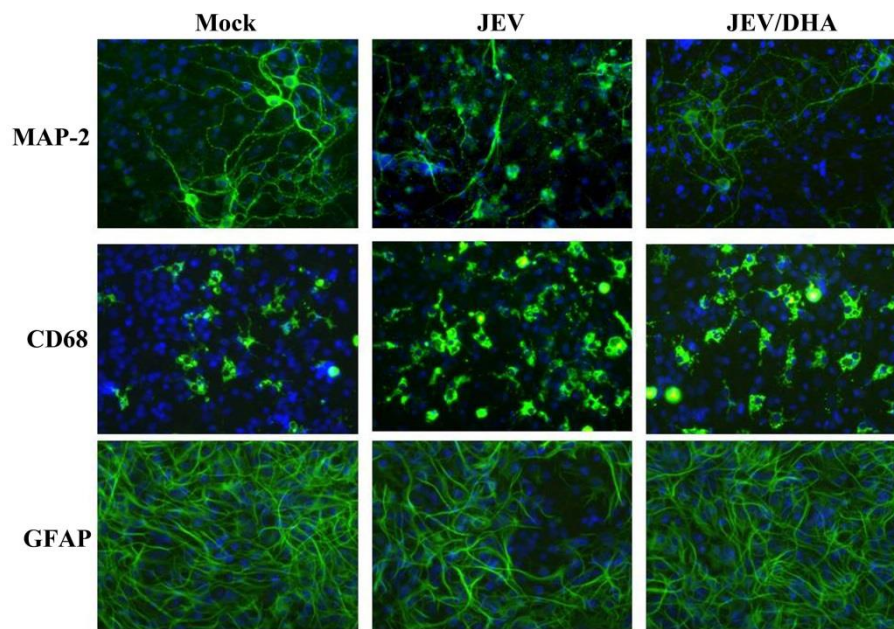


Figure 1. JEV infection damaged neurons and activated microglia in neuron/glia cultures. DHA showed inhibitory effects against JEV-associated neurodegeneration and neuroinflammation.

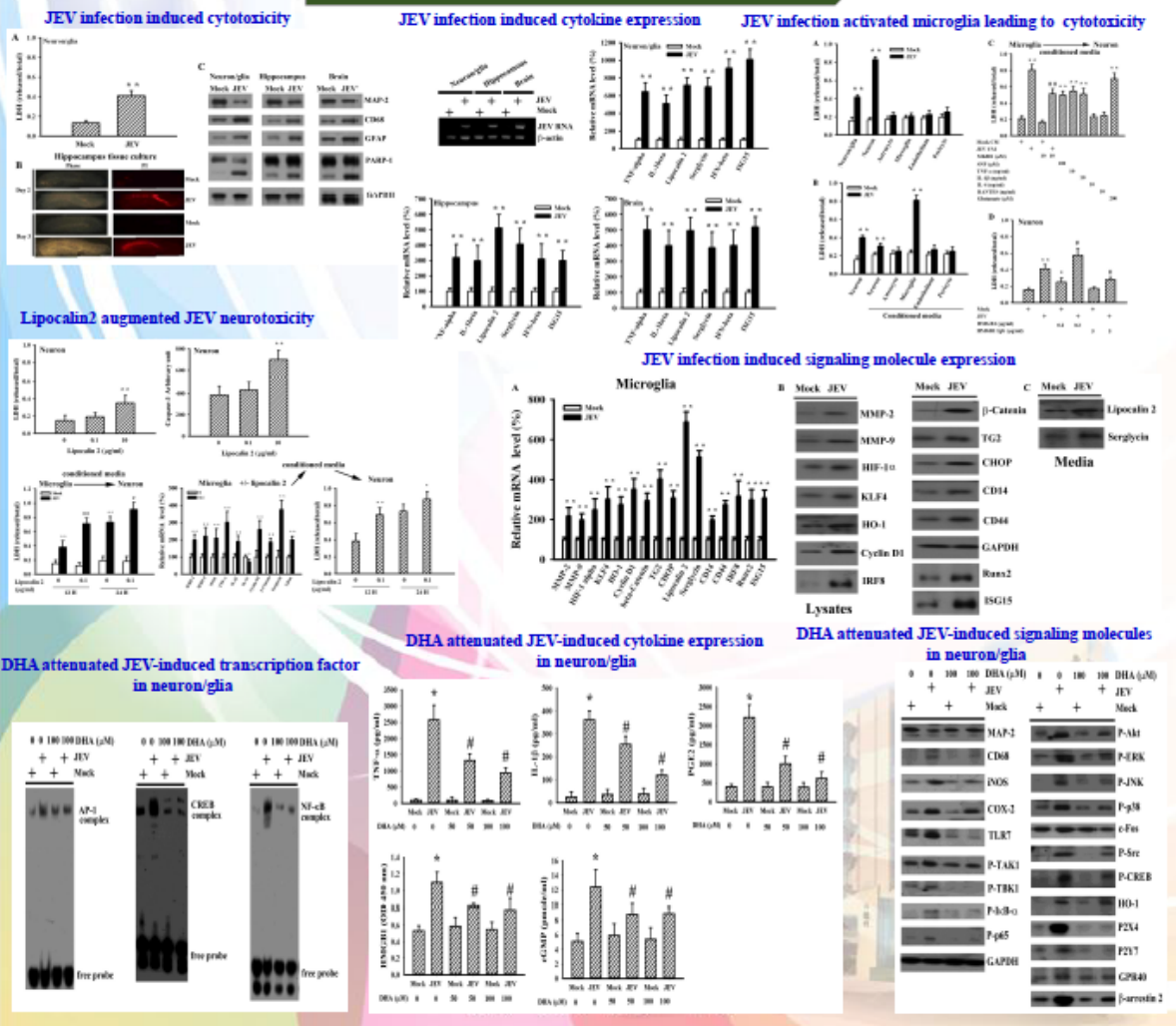
Investigation of Japanese encephalitis virus infection-induced neuroinflammation and pharmacological intervention

Chun-Jung Chen, Su-Lan Liao, Cheng-Yi Chang, Yu-Ting Hung
Department of Medical Research, Taichung Veterans General Hospital, Taichung City 407, Taiwan

Abstract

Background: Neuroinflammation has a central role in common pathologies of brain diseases. Japanese encephalitis, which is caused by infection with mosquito-transmitted Japanese encephalitis virus (JEV), is an example of an immunopathological disease closely associated with pathological disruption of the BBB and severe neuroinflammation. Those immunopathological changes correlate well with the onset and disease progression of Japanese encephalitis and represent promising targets for therapeutic control. **Methods:** Cultured neuron, astrocytes, and microglia were prepared from cerebral cortices of Sprague-Dawley rats. JEV NT113, a JEV strain isolated from mosquito, was propagated in C6/36 cells and used to infect cultured cells. **Results:** Data of current studies showed that JEV infection-induced microglia activation, proinflammatory cytokine expression, and neuronal cell death were all accompanied by microglial upregulation of lipocalin 2. Exogenous lipocalin 2 caused microglial activation and neuronal cell death as well as even augmented JEV infection-induced neuroinflammation and neurodegeneration. The biochemical effects of lipocalin 2 were partly mediated by the activation of IRF8 and KLF4. DHA has been implicated in the suppression of neuroinflammation and neurodegeneration. Our findings also demonstrated that DHA was able to alleviate JEV infection-induced neuroinflammation and neurotoxicity as well as decrease inflammatory cytokine expression. The immunosuppressive effects of DHA against JEV infection were attributable to inhibition of AP-1, CREB, NF- κ B. **Conclusion:** The data advance our understanding about the neuroinflammation and damaging mechanisms of JEV regarding the involvement of lipocalin 2 and indicate that DHA can attenuate JEV infection-induced neurotoxicity involving resolution of neuroinflammation.

Results

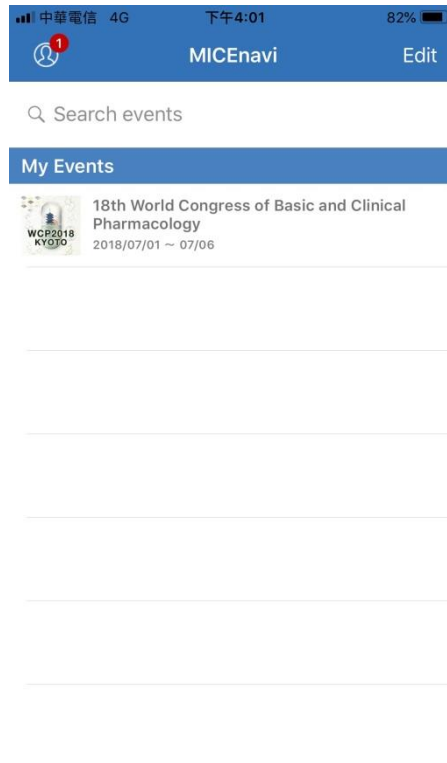


四、建議事項 (包括改進作法)

本次研討會主軸冀望藉由前瞻性不同領域的藥理研發，進而能開發潛在性藥物產品，增進人類的健康。本院是中部地區唯一公立醫學中心，肩負臨床服務、教學、研究任務。目前醫院有良好醫療服務及病患照護，具有臨床資源。本院研究部配有動物實驗中心、臨床試驗中心、轉譯醫學中心。也有生物資訊、健保資料庫分析、細胞研究、動物研究、基因研究、基礎研究專任研究人員。從本次研討會國外專家學者的成果發表及經驗分享發現，配合政府科技部的經費補助及本院的臨床與基礎研究資源，應該具有開發轉譯醫學技術及產品的能量。除了感謝科技部補助研究計畫及出國參與國際會議經費外，也感

謝本院給與 6/30~7/7 8 天公假及行政協助，方可參與本次研討會。獲益良多。冀望科技部及本院能多鼓勵及補助研究人員出國開會，增廣見聞、學習新知。可移植改進新穎技術及觀念。

本次會議另一項可供借鏡的發現，會議資料的 APP 系統。傳統上，會議議程及內容相關資料會公布在網頁、紙本、光碟。本次會議則採用 APP 系統。註冊 APP 系統登錄後，可搜尋鍵入系統年度規劃的會議場次。點選會議圖示，介面就會出現當次會議的所有資訊。除了可搜尋傳統網頁、紙本、光碟資訊外，所有場次講者名字、題目、摘要，都可閱讀。可勾選有興趣的場次題目，匯集到 My list 檔案夾，方便閱讀。重要的，這些資料可匯集到行程規畫及提示。提醒所註記場次時間，準時到該場次聽講或閱讀壁報。這種 APP 系統，應該可以引用到醫院門診搜尋、看診進度、衛教、教學、研究等方面應用。



APP 介面



APP 操作畫面

附錄

附件六

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7月16日

計畫編號	MOST 106-2320-B-075A-001-MY3		
計畫名稱	探討 lipocalin 2 的日本腦炎神經傷害及神經發炎角色 Role of lipocalin 2 in Japanese encephalitis neurotoxicity and neuroinflammation		
出國人員 姓名	陳春榮	服務機構 及職稱	臺中榮民總醫院醫學研究部/研究員
會議時間	107年7月1日至 107年7月6日	會議地點	日本京都
會議名稱	(中文) 第18屆基礎及臨床藥理世界年會 (英文) 18 th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, WCP2018		
發表題目	(中文) 探討日本腦炎病毒感染的神經發炎及藥理治療策略 (英文) Investigation of Japanese encephalitis virus infection-induced neuroinflammation and pharmacological intervention		

活動剪影相片



報到處



開幕會場



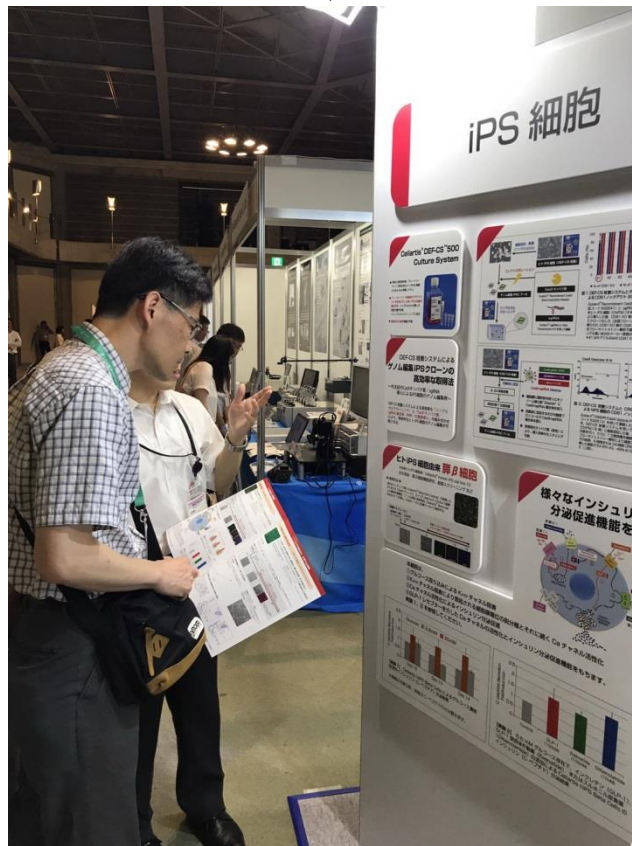
學會簡介、期刊簡介



壁報展示區



壁報討論區



壁報展示討論