



RRPG89100532(// .P)

計畫編號：NHRI-GT-EX89E840C

國家衛生研究院八十九年度整合性醫藥衛生科技研究計畫

光感物質經口傳輸系統之研發

計畫名稱

年度成果報告

執行機構：台北醫學院

計畫主持人：蔡翠敏

執行期間：88年7月1日至89年6月30日

本研究報告僅供參考用，不代表本院意見

計畫名稱：光感物質經口傳輸系統之研發

計畫編號：NHRI-GT-EX89E840C

執行機構：台北醫學院

計畫主持人：蔡翠敏

研究人員：陳進庭；詹淑華；柯惠菁；陳惠群

關鍵字：5-氨基酮戊酸 (ALA)，黏膜吸附錠，螢光光譜，光動治療

壹、八十九年度計畫研究成果摘要

光動治療的藥品投予方式，大多採行靜脈注射或口服等全身性的給藥。將光感物質或其前趨藥物直接導入欲治療的部位，除了在皮膚病變的治療上已有較多的臨床報告之外，對於同樣容易自體外直接接觸到病灶部位的許多黏膜組織，例如口腔而言，則仍缺乏適當的藥品載送劑型。在上一年度的計劃中，我們嘗試了以吸附性錠片及吸附性薄膜的製作，並建立了模擬口腔病變的動物模式。

本年度的研究進展可分為以下四部份：

1、 建立體外 PpIX 生成量的測定

由於 ALA 本身並非光感物質，需經由代謝生成 PpIX，配合適當波長之光照，始能發揮光動效應。因此，我們以細胞培養的方式，測試經由外加 ALA 而產生 PpIX 之關係。並探討在吸附錠片中使用之賦形劑，對於 PpIX 生成之影響。

實驗方式是利用已培養好的 KB 細胞，在每個直徑 6cm 的培養皿種 3×10^5 細胞，培養隔夜，投予 5-ALA 之後，在二氧化碳的培養箱中培養固定時間，用 20% Tritone 將細胞刮下，萃取溶解在鹽酸中的 PpIX。利用螢光光譜儀以 405 nm (Ex) 激發，測量 PpIX 在 607nm 吸

收值，再利用已知濃度 PpIX 標準品反推 PpIX 的濃度。另取相同細胞的檢品，並以 BCA 試劑檢測蛋白質的方法測其蛋白質含量。經過蛋白質校正後可得到每單位蛋白質濃度所含 PpIX 的量。

1-1 研究 ALA 濃度與 PpIX 生成量的關係

KB 細胞在分別加入濃度為 0、0.2、1、2、5 mM 的 ALA 反應 3 小時之後，分析細胞生成 PpIX 量的變化。結果顯示 PpIX 的生成隨著 ALA 的增加而增加，到 1 mM ALA 時，則趨近於高原值，而 2、5 mM 的 ALA 則生成與 1 mM ALA 相似的 PpIX 量。

1-2 研究時間與 PpIX 生成量的關係

KB 細胞在投予 1 mM 之 ALA 之後，分別反應 0、2、3、4、5 小時。結果在 3 小時 PpIX 量達到高原值，而 4、5 小時與 3 小時生成類似的 PpIX 量。

1-3 研究賦形劑對 PpIX 生成量的影響

Carbopol

將 KB 細胞投予 1 mM ALA 以及濃度分別為 0、0.01%、0.001% 之 Carbopol 941 或 971P，反應 3 小時，觀察 Carbopol 對 PpIX 生成量的影響。結果顯示 Carbopol 的添加，增加 PpIX 的生成量，且 Carbopol 941 的效果大於 Carbopol 971 P。添 0.01% 或 0.001% Carbopol 對 PpIX 生成效果並無顯著差異。

乳糖

將 KB 細胞投予 1 mM ALA、0.01% Carbopol、以及 0.01% 乳糖反

應 3 小時之後，PpIX 生成量較只添加 ALA 之對照組為高，但比同時添加 ALA 與 Carbopol 之另一對照組為低。

甘露醇

將 KB 細胞投予 1 mM ALA、0.01% Carbopol、以及 0.01% 甘露醇反應 3 小時之後，顯示添加 0.01% 甘露醇與 Carbopol 所生成 PpIX 量較只添加 Carbopol 時低。但若以添加乳糖 + Carbopol 與甘露醇 + Carbopol 相比較，則後者生成之 PpIX 量較多。

2、體外照光反應

將培養好的細胞，種到 96 well 的培養皿中培養隔夜，對照組投與 1 mM 之 ALA，其他組分別投與添加 0.01% Carbopol 941 + 1 mM ALA、0.001% Carbopol 941 + 1 mM ALA、0.01% Carbopol 941、0.01% 乳糖 + 1 mM ALA、以及 0.01% 甘露醇之 1 mM ALA，反應 3 小時後照紅光，以進行細胞毒性試驗。在照光後，經過 16 小時的培養之後，加入 MTT 試劑，於二氧化碳培養箱中反應 1 小時後，除去廢液，加入 100 ul 的 DMSO，利用 Elisa reader 光譜儀震動 300 秒溶解 MTT 的代謝產物後，量測 570 nm 之吸收值。實驗組與對照組的結果相似。

3、活體之 PpIX 螢光光譜測定

螢光光譜的測試是經由一條連接到光譜的光纖，將實驗動物的頰囊袋在麻醉狀態下拉出，直接以光纖進行活體螢光量測。以腹腔注射 100-700 mg/kg 的 ALA，無論是正常或頰囊袋以致癌物 DMBA 處理過之倉鼠，在以 410 nm 激發之下，皆可在特定之時間內，於 636 nm 附近呈現 PpIX 的發射波。整體而言，636 nm 發射螢光的大小與投予劑量

有正向關係，且大多於投予後 3-4 小時達到最高峰。隨著投予劑量的增加，636 nm 發射螢光最高峰的延續時間也有延長的趨勢。當以吸附性錠片貼於單一側之頰囊袋內，結果顯示 636 nm 螢光的大小明顯較相似劑量的 ALA 腹腔注射組為高。實驗發現以錠片投予 2 小時之後的 2-3 小時，636 nm 的螢光強度為最高值。在沒有投予錠片之另一側則在投予之後 6 小時內，並無明顯異於背景值的變化，顯示吸附性錠片的確將 ALA 集中於單一側頰囊袋內釋出。

4、 吸附性錠片之活體光動效應

以 ALA 含量為腹腔注射之 1/2 至 1/3 劑量的吸附性錠片投予之後 2 小時給予紅光照射 10 分鐘，將動物移至避光處 48 小時之後，將其頰囊袋取出進行病理分析。由切片結果顯示，組織在經過實驗中之照光條件處理之下，僅於局部組織呈現發炎反應。雖然在螢光光譜的比較上，此錠片應能發揮有效之光動治療效應，但是病理切片的結果卻是不如預期。除了劑型可進一步加以改善，在光源的設定上並需加強有效照射量。

貳、八十九年度計畫著作一覽表

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
 若為群體計畫，請勾選本表屬於：子計畫 總計畫(請自行整合)

列出貴計畫於本年度中之所有計畫產出於下表，包含已發表或已被接受發表之文獻、已取得或被接受之專利、擬投稿之手稿 (manuscript) 以及專著等。「計畫產出名稱」欄位請依「臺灣醫誌」參考文獻方式撰寫；「產出型式」欄位則填寫該產出為期刊、專利、手稿或專著等，舉例如下：

| 序號 | 計畫產出名稱 | 產出型式 | SCI* | 致謝與否 |
|-----|---|------|--------------------------|--------------------------|
| 例 | Chang SF, Cheng CL. The suppression effect of DNA sequences within the C4A region on the transcription activity of human cyp21. Endocrine Research. 1998, 24(3&4):625-630 | 期刊 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 1. | | | | |
| 2. | | | | |
| 3. | | | | |
| 4. | | | | |
| 5. | | | | |
| 6. | | | | |
| 7. | | | | |
| 8. | | | | |
| 9. | | | | |
| 10. | | | | |

*SCI：Science Citation Index，若發表之期刊為 SCI 所包含者，請打勾。

*「致謝與否」欄位：若該成果產出有註明衛生署或國家衛生研究院委託資助字樣者，請打勾。

*本表如不敷使用，請自行影印。

參、八十九年度計畫重要研究成果

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
若為群體計畫，請勾選本表屬於：子計畫 總計畫(請自行整合)

1.計畫之新發現或新發明

賦形劑 Carbopol 對於 KB 細胞經投予 ALA 後之 PpIX 生成量有增加的作用。由於 Carbopol 為帶正電之聚合物，且為製劑中常使用的賦形劑，值得進一步評估期其增加 PpIX 生成量的作用機制。

2.計畫對學術界或產業界具衝擊性 (impact) 之研究成果

本年度無具衝擊性之研究成果

3.計畫對民眾具教育宣導之研究成果

藥品使用不當及可成為毒藥。在疾病的治療上，藥品的投予途徑、劑型以及給藥時間都是以達到最佳治療效果、並且將副作用控制在最安全的範圍內為原則，而進行設計研究的。光動治療是一種作用機制不同於化學療法或放射線療法的癌症治療方式。但是光動治療也有其侷限性及副作用，本研究藉由劑型的設計，將原先一向是經由全身性口服或靜脈注射給藥的方式，改為直接貼在治療部位，由動物實驗的結果初步顯示此劑型能使藥品集中在作用局部釋出。

肆、八十九年度計畫所培訓之研究人員

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
 若為群體計畫，請勾選本表屬於：子計畫 總計畫(請自行整合)

| 種類 | | 人數 | 備註 |
|------------------|----------------|-----|----|
| 專 任 人 員 | 1. 博士後 研究人員 | 訓練中 | |
| | | 已結訓 | |
| | 2. 碩士級 研究人員 | 訓練中 | |
| | | 已結訓 | |
| | 3. 學士級 研究人員 | 訓練中 | 1 |
| | | 已結訓 | |
| | 4. 其他 | 訓練中 | |
| | | 已結訓 | |
| 兼 任 人 員 | 1. 博士班 研究生 | 訓練中 | |
| | | 已結訓 | |
| | 2. 碩士班 研究生 | 訓練中 | |
| | | 已結訓 | |
| 醫 師 | 訓練中 | | |
| | 已結訓 | | |
| 特殊訓練課程 | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

註：1.特殊訓練課程請於備註欄說明所訓練課程名稱

2.本表如不敷使用，請自行影印

伍、八十九年度重要研究成果產出統計表

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
若為群體計畫，請勾選本表屬於：子計畫 總計畫(請自行整合)

(係指執行八十九年度計畫之所有研究產出成果)

| 科 技 論 文 篇 數 | 技 術 移 轉 | | 技 術 報 告 | | | |
|--------------|---------|-----|------------|-----|-----|---------------------|
| | 國 內 | 國 外 | 類 型 | 經 費 | 項 數 | 篇 |
| 期 刊 論 文 | 篇 | 篇 | 技 術 輸 入 | 千 元 | 項 | 技 術 創 新 項 |
| 研 討 會 論 文 | 篇 | 1 篇 | 技 術 輸 出 | 千 元 | 項 | 著 作 權 (核 准) 項 |
| 專 著 | 篇 | 篇 | 技 術 擴 散 | 千 元 | 項 | 專 利 權 (核 准) 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分，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。

陸、參與八十九年度計畫所有人力之職級分析

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
若為群體計畫，請勾選本表屬於：子計畫 總計畫(請自行整合)

| 職級 | 所含職級類別 | 參與人次 |
|-----|---------------|------|
| 第一級 | 研究員、教授、主治醫師 | 人 |
| 第二級 | 副研究員、副教授、總醫師 | 2 人 |
| 第三級 | 助理研究員、講師、住院醫師 | 人 |
| 第四級 | 研究助理、助教、實習醫師 | 2 人 |
| 第五級 | 技術人員 | 1 人 |
| 第六級 | 支援人員 | 人 |
| 合計 | | 5 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、參與八十九年度計畫所有人力之學歷分析

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
 若為群體計畫，請勾選本表屬於：子計畫 總計畫(請自行整合)

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

捌、參與八十九年度計畫之所有協同合作之研究室

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
 若為群體計畫，請勾選本表屬於：子計畫 總計畫(請自行整合)

| 機構 | 研究室名稱 | 研究室負責人 |
|------|---------------|--------|
| 台灣大學 | 醫學院光電生物醫學研究中心 | 陳進庭 |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

玖、八十九年度之著作抽印本或手稿

依「貳、八十九年度計畫著作一覽表」所列順序附上文獻抽印本或手稿。