• 計畫中文名稱	Caspase 非依存性凋亡之分子訊息探討---粒線體與 Calpain 之研究		
• 計畫英文名稱	Moelcular Signaling of Caspase-Independent Apoptosis---The Role of Mitochondria and Calpain		
• 系統編號	PC9308-1848	• 研究性質	基礎研究
• 計畫編號	NSC93-2320-B038-047	• 研究方式	學術補助
• 主管機關	行政院國家科學委員會	• 研究期間	9308 ~ 9407
• 執行機構	台北醫學院生物化學科		
• 年度	93 年	• 研究經費	980 千元
• 研究領域	基礎醫學類		
• 研究人員	施純明		
• 中文關鍵字	鎘; 細胞凋亡; 粒線體; 電子傳遞鏈; 粒線體膜通透孔洞; 活性氧分子		
• 英文關鍵字	--		
• 中文摘要	鎘是一種已熟知會導致人類及動物產生嚴重病變的環境污染物。愈來愈多的證據顯 示鎘是經由活性氧分子導致細胞毒性。本研究室已證實，100 μM 鎘可引發人類正常肺 細胞(MRC-5)產生不同型式的細胞死亡，包括：第一期細胞凋亡(早期細胞凋亡)，第二 期細胞壞死(晚期細胞凋亡)，和細胞壞死反應。此過程中，粒線體扮演中樞調控角色。 粒線體經其膜電位去極化並釋放出 AIF (凋亡誘導因子)，而使得人類正常肺細胞走向 caspase-independent 的凋亡途徑。(Shih et al., 2003)。然而，鎘所誘發 caspase-independent 凋亡之訊息分子傳遞路徑仍未明瞭。眾多研究證據顯示： 粒線體在 caspase-dependent 的 細胞凋亡路徑中位居要角。但是，粒線體和 caspase-independent 凋亡途徑之間的關係仍 難以釐清，尤其在正常細胞株的系統中，文獻著墨甚少。因此，本計畫擬以鎘誘導人類 正常肺細胞(MRC-5)走向 caspase-independent 凋亡途徑，藉以探討粒線體居中的角色。 以香煙爲例，約有 60% 以上的含鎘物質會沉積於肺臟中並被吸收。除此之外，鎘暴露 亦是肺氣腫之主要肇因。MRC-5 是人類正常肺纖維母細胞，爲本計畫之主要細胞模型。 以此爲基礎，本計畫將探討：(1)利用廣效型 caspase 抑制劑 Z-VAD.fmk，偵測不同鎘濃 度(0-150 μM)下細胞之凋亡途徑爲 caspase-dependent 或 caspase-independent；(2)以 DCFH-DA，HEt，或 DHR-123 進行染色，再利用流式細胞儀(flow cytometry)觀察鎘所 引起 MRC-5 細胞死亡時之 ROS 變化；(3)利用免疫螢光染色(immuno-staining)結合共軛 焦顯微鏡(confocal microscopy)技術，並以粒線體膜電位追蹤染劑(JC-1 及 CMXRos)，探 討粒線體膜電位去極化和粒線體相關之凋亡因子(AIF, Endo G, Bax, Bcl-2, or cytochrome c)的關聯性；(4)利用電子傳遞鏈(ETC)抑制劑及粒線體膜通透孔洞(MPTP)抑制劑探討 ETC 及 MPTP 對 caspase-independent 凋亡途徑及 ROS 生成之作用；(5)利用 Fluo-3-AM 量測胞內鈣離子濃度變化，並探討 calpain 在正常細胞行 caspase-independent 凋亡過程所 扮演之角色；(6)利用去除粒線體 DNA(mtDNA)之細胞株(ρ0 cells)，以更進一步瞭解粒線 體在 caspase-independent 凋亡中的角色。本計畫之研究成果有助於研究者深入瞭解正常 細胞中 caspase-independent 細胞凋亡過程中，		

	粒線體及 calpain 所扮演的角色。
• 英文摘要	查無英文摘要