

國立臺灣大學醫學院分子醫學研究所

在職專班遺傳諮詢組

碩士論文

Genetic Counseling Program

Institute of Molecular Medicine, College of Medicine, National Taiwan

University

Master Thesis

FOXM1 基因在妊娠糖尿病患者週邊血及臍帶血中之表現

The expression of FOXM1 in peripheral blood and

umbilical cord blood from patient with GDM.

陳玳婷

Ding-ting Chen

指導教授：李建南 教授

Advisor : Professor Chien-Nan Lee

中華民國 108 年 7 月

July, 2019



國立臺灣大學 (碩) 博士學位論文
口試委員會審定書



FOXMI 基因在妊娠糖尿病患者週邊血及臍帶血中之表現

The expression of FOXMI in peripheral blood and
umbilical cord blood from patient with GDM.

本論文係陳玳婷君 (P06448006) 在國立臺灣大學分子醫學研究所完成之碩士學位論文，於民國 108 年 07 月 11 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

李建南

(簽名)

(指導教授)

李弘元

林慧婷

系主任、所長

李弘元 (簽名)

誌謝

兩年前，帶著一股想探知遺傳諮詢領域的單純和衝勁就報考了在職專班，對於研究所的課程及可能面對的挑戰一無所知，如今在走過所有過程後，我想對當初的自己說聲謝謝，謝謝當初願意踏出那一步，讓我能遇見和體驗這一切，藉此機會我想感謝那些這一路上陪著我和幫助我的貴人們。

首先我要感謝李建南醫師，在我剛進研究所仍豪無頭緒時，就非常熱情且大膽的簽我為指導學生，醫師的名聲在職場上早有耳聞，謝謝醫生願意在百忙中仍提供給我充足的資源，讓我無後顧之憂；感謝林芯仔醫師，從研究方向的發想到研究收案和執行的過程，都耐心的陪著我，深知自己很多地方做得不夠完善的我，在這也想對醫師說聲對不起；感謝玉嬌姐，在我歷經各種實驗卡關時，不厭其煩的告訴我實驗的小撇步，甚至請別系的學長提供寶貴的實驗經驗或細胞檢體，使我能更有效率的建立實驗流程，很多時候更是她沒有說，但我知道她為我默默做了很多的小細節。

另外，若沒有這些工作上的夥伴支持，更不可能讓我如此安心的完成學業：帛禾、志豪和映謙。這群人在我一入學時就告訴我，若妳去上學了，公司有事就交代我們吧，別擔心！在每個做實驗或是實習的時候，很謝謝他們總能夠義不容辭的承擔額外的工作量，就算有時耽擱了他們的下班時間，也只是笑笑地說沒關係。職場上能成為朋友的不多，能為自己付出不求回報的更少，但很慶幸我擁有這麼多，雖然目前皆已不在同個單位打拼，但在我最需要你們的每個時刻，你們伸出的手，我會銘記，也祝福大家在職場上都能有好的未來。

中文摘要



研究背景：

在動物實驗中，foxm1 基因被發現其對於懷孕的母鼠血糖恆定以及 beta 細胞質量擴增是必要的。人體懷孕的過程，母體胰島素阻抗會因為胎盤賀爾蒙分泌、孕期體重的增加、胎兒的負擔以及孕婦的飲食習慣而隨著孕期不斷增加，而妊娠糖尿病就會慢慢在無法順利平衡血糖的孕婦上發生。本研究假設人體在面對胰島素需求上升的情形時，一樣需要透過 FOXM1 基因相關的 beta 細胞的擴張過程來克服。另外，因母體患有妊娠糖尿病，而在高血糖環境下發育的胎兒可能會因為某些基因的表觀遺傳變化，而提升了其在日後得到肥胖、第二型糖尿病或是心血管相關疾病的風險。因此除了孕婦，胎兒也會是研究觀測的重點。

研究方法：

本研究共收錄 166 位孕婦及胎兒的血液檢體，並以 real-time PCR 相對定量法量測在妊娠糖尿病及非妊娠糖尿病孕婦的周邊血中 FOXM1 mRNA 表達量的倍數差異。胎兒部分則會比較妊娠糖尿病患的子代和非妊娠糖尿病患子代臍帶血中 FOXM1 mRNA 的表達量差異，並偵測兩組臍帶血血清中 Glucose、insulin 和 C-peptide 含量，並計算 HOMA-IR。最後，研究數據皆以 IBM SPSS statistic 資料編輯器以適當的統計方式進行比較分析。

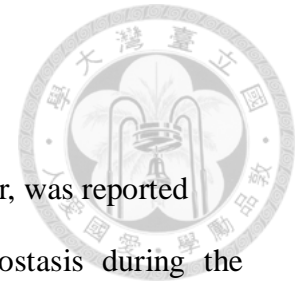
研究結果：

研究發現 FOXM1 mRNA 的表達量在胎兒臍帶血中較母體周邊血高約 2.4 倍，符合過去研究顯示 FOXM1 基因會在發育組織中高量表達的現象，但在第三孕期有無妊娠糖尿病孕婦以及在母體有無妊娠糖尿病的胎兒臍帶血樣本比較中皆未達統計上顯著差異。接著，將胎兒臍血 FOXM1 ΔCt 與胎兒臨床變數進行線性關係分析，結果在各變數間亦無發現明顯的線性關係。會造成以上研究結果的可能原因為組間樣本數不均、取樣時機及樣本種類而呈現的結果，每一個都是可以加以改善並進一步探討的方向。FOXM1 基因與人類妊娠糖尿病的關係仍為未知，希望透過此研究可以做為一個開端，以期未來能針對此議題做更深入的研究。

關鍵字：妊娠糖尿病、FOXMI 基因、孕婦周邊血、胎兒臍帶血



Abstract



Background :

FOXO1(Forkhead box O1), known as a transcription activator, was reported to be essential for the beta-cell expansion and glucose homeostasis during the pregnant period in mice model. With the increasing of fetal burden, weight gain and the secretion of placental hormones through human gestation, maternal insulin resistance reaches its peak. Once pregnant woman fails to maintain glucose homeostasis under such circumstance, gestational diabetes mellitus (GDM) will be diagnosed at 24-28 gestational week by glucose tolerance test. In this assay, we assumed that human shared the same mechanism what animal model suggested. That is, human will overcome increased demand for insulin through FOXO1-associated beta cell expansion pathway.

Method :

To address this hypothesis, 166 subjects were recruited and collected maternal peripheral blood from the patients with GDM to test the FOXO1 mRNA relative expression level between control group and experimental group. Next, due to fetus developed in hyperglycemia environment reflects its higher insulin needs, we also harvested postpartum cord blood from the GDM to test the FOXO1 mRNA expression level, and test glucose、insulin and C-peptide protein concentration at the same time. Because the newborn umbilical cord blood was considered in the fasting status, the HOMA-IR then calculated by the serum glucose and insulin levels.

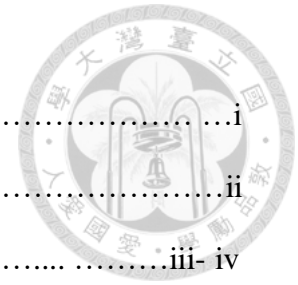
Result :

In this study, data showed that FOXO1 mRNA expression level in umbilical cord blood was 2.4 times higher than that of in the mother peripheral blood, this is consist with the role FOXO1 displays in the past research. However, as the result of unequal sample size、sampling timing and type of specimen, either in third trimester

peripheral blood with/without GDM or in fetus umbilical cord blood from with/without GDM mother show no statistic significant. The relationship between FOXM1 and GDM still unknown, but hope this study can be a start for any possible further research.

Key word : GDM, FOXM1, mother peripheral blood, fetus umbilical cord blood

目錄



口試委員會審定書.....	i
誌謝.....	ii
中文摘要.....	iii- iv
Abstract.....	v-vi
第一章 研究背景與動機機	
1.1 妊娠糖尿病的介紹.....	1
1.2 妊娠糖尿病的致病機轉.....	1-2
1.3 妊娠糖尿病的臨床症狀.....	2
1.4 妊娠糖尿病的診斷標準.....	3
1.5 妊娠糖尿病的疾病管理.....	3
1.6 FOXM1(Forkhead box protein M1)基因介紹.....	3-6
1.7 妊娠糖尿病與 FOXM1 可能的關係.....	6-12
第二章 研究目的及動機.....	13
第三章 研究方法	
3.1 研究對象	
3.1.1 受試者來源與收案標準.....	14
3.1.2 同意書的簽署.....	14
3.2 檢體來源.....	14
3.3 研究方法	
3.3.1 白血球、血漿及血清的製備.....	14-15
3.3.2 抽取總 RNA.....	15
3.3.3 確認 RNA 品質與定量.....	15-16
3.3.4 反轉錄作用.....	16
3.3.5 引子的設計.....	17
3.3.6 即時定量聚合酶連鎖反應(Real-time qPCR)	17-18



3.3.7 相關檢驗數據.....	18
3.3.8 數據統計方法.....	19
第四章 研究結果	
4.1 研究結果的圖表	
4.1.1 孕婦與妊娠糖尿病相關的臨床參數特性.....	20
4.1.2 胎兒與妊娠糖尿病相關的臨床參數特性.....	20
4.1.3 母血與臍血中 FOXM1 mRNA 相對表現量比較.....	21
4.1.4 母血和臍血在有無妊娠糖尿病的狀態下相對表現量的比較.....	23
4.1.5 臍血 FOXM1 Δ Ct 與各變項間的線性關係.....	24
第五章 討論	
5.1 研究結果的討論	
5.1.1 孕婦與妊娠糖尿病相關的臨床參數特性.....	24
5.1.2 胎兒與妊娠糖尿病相關的臨床參數特性.....	24
5.1.3 母血與臍血中 FOXM1 mRNA 相對表現量比較.....	24-25
5.1.4 母血和臍血在有無妊娠糖尿病的狀態下相對表現量的比較.....	25
5.1.5 臍血 FOXM1 Δ Ct 與各變項間的線性關係.....	25
第六章 未來展望.....	26-27
參考文獻.....	28-31
附錄	
附錄一、受試者同意書.....	32-36

圖目錄

圖一、FOXMI 基因結構及其異構物.....	4
圖二、FOXMI 基因在成人不同組織中的表現量.....	5
圖三、各式癌別中 FOXMI 基因過量表達的報導.....	6
圖四、FoxM1 基因在懷孕過程中 mRNA 表達量上升.....	7
圖五、FoxM1 ^{Δpanc} 母鼠的 β 細胞減少生長.....	8
圖六、FoxM1 ^{Δpanc} 母鼠分別在 GD12.5 和 GD15.5 發產出葡萄糖不耐症和妊娠糖尿病.....	9
圖七、FoxM1 ^{Δpanc} 公鼠的 Beta 細胞質量無法隨著年齡擴增.....	10
圖八、FoxM1 ^{Δpanc} 公鼠在第九週時發展出糖尿病.....	10
圖九、過量表達 FoxM1 基因能刺激胰島細胞生長.....	11
圖十、過量表達 FoxM1 基因能刺激 β 細胞生長.....	11
圖十一、樣本總 RNA 電泳跑膠圖.....	16
圖十二、目標引子最適作用溫度試驗.....	17
圖十三、Real-time PCR 相對定量定量基因擴增圖.....	18
圖十四、母血與臍血 FOXMI mRNA 相對表現量.....	21
圖十五、母血有無妊娠糖尿病的 FOXMI mRNA 相對表現量.....	22
圖十六、臍帶血有無妊娠糖尿病的 FOXMI mRNA 相對表現量.....	23
圖十七、FOXMI 基因的多功能面向.....	26

表目錄

表一、各個時間點靜脈血血糖標準值.....	3
表二、目標基因引子序列.....	17
表三、孕婦與妊娠糖尿病相關的臨床參數.....	20
表四、胎兒與妊娠糖尿病相關的臨床參數.....	21
表五、常態分布檢定.....	22
表六、臍血FOXMI Δ Ct與各變項間的相關係數.....	24



第一章 研究背景與動機



1.1 妊娠糖尿病的介紹

體內血糖代謝是由多個器官相互調節的結果，包括肝臟、胰臟 beta cell、骨骼肌以及脂肪組織。正常血糖上升，胰臟 β 細胞會分泌胰島素，使葡萄糖進入肝臟以及脂肪細胞中儲存，並使肌肉以葡萄糖為能量來源，以利血糖的平衡，若血糖調節失敗，就會造成糖尿病。糖尿病の種類可以分為第一型糖尿病、第二型糖尿病以及妊娠糖尿病，也有其餘因感染、胰臟受損或藥物引起等而造成的糖尿病。而根據 1997 年美國糖尿病學會所定義的妊娠糖尿病，是指孕前無糖尿病病史，於懷孕過程中發展並被初次確診的葡萄糖耐受不良現象。[1, 2] 全球根據統計約有 14% 的懷孕會合併 GDM 的發生，也就是每年約有一千八百萬的新生兒由 GDM 的媽媽生下。[3] 各國因所採用的篩檢程序以及診斷標準不同，妊娠糖尿病在各族群間的發生率有著極大的差異，而我國發生率約為 3% 到 9%。[4]

1.2 妊娠糖尿病的致病機轉

過去研究指出正常懷孕過程中，母體體內的內分泌以及代謝系統會為了因應胎兒的發育而產生一系列的改變，在血糖調節方面，會發現懷孕初期胰島素抗性先下降，到了第二及第三孕期才會大幅度的攀升，這也暗示藉由胰島素敏感度的提升能使母體在第一孕期儲存足夠的肝醣及形成脂肪，接著在第二及第三孕期透過胰島素敏感度的下降，母體糖份不易被細胞吸收使用或轉成脂肪儲存，血液中葡萄糖及三酸甘油脂含量上升，使養份有機會由胎盤提供給胎兒發育所需。[5-7] 一般來說，面對體內血糖調節機制的大幅變動，母體也會產生相對應的代償機制來去抗衡，包含胰臟 β 細胞會發生數量和體積上的增加或增加胰島素的分泌量，並且這些改變都會在產後回復到產前的狀態。[8, 9]

因此，若在調節血糖中的任一環節出現問題就會導致妊娠糖尿病的發生，目前對於妊娠糖尿病的致病機轉有多種面相的探討，包含懷孕前母體就可能存在的 B 細胞功能擴增障礙（無法有效偵測血糖；無法製造或分泌足量胰島素）

[10-12]、慢性胰島素抗性的增加(胰島素感受細胞表面的 glucose transporter 4 表現量不足;發炎因子所引起的 PKC 路徑抑制了胰島素的訊息傳遞)[13, 14]、神經賀爾蒙網絡的失調(日夜節律的調控;脂肪激素,如 leptin 或 adiponectin 的分泌及調控)[15, 16]、胎盤激素的分泌...等。而影響罹患妊娠糖尿病風險的因子亦尚未有明確的定論,曾報導過的包括遺傳、高齡[17]、家族妊娠糖尿病史[18]、種族[19]、飲食習慣[20]、孕期體重增加過多[21]等。

1.3 妊娠糖尿病的臨床症狀

妊娠糖尿病對於孕婦及胎兒來說皆會產生多重的短、長期後遺症。孕婦可能有羊水過多、早產、新生兒低血糖以及子癲癇症等情形。而在高血糖下發育的胎兒,則會有成為巨嬰、先天畸形、低血鈣症以及呼吸窘迫的狀況發生。生產過程中,因為胎兒的體型過大,無論選擇自然產或剖腹產都可能發生肩難產的狀況,甚至無順利產出進而發生窒息而死亡。[22, 23]

該疾病的進程會始於懷孕,大部份的孕婦也會在分娩後就恢復到正常的血糖狀態,但是卻有約 20%的孕婦卻會在產後約 6 到 12 周的期間內產生空腹血糖異常或葡萄糖耐受性不良的現象。在過去的文獻中指出,有妊娠糖尿病病史的個案平均日後得到第二型糖尿病的風險是非妊娠糖尿病個案的七倍之多,約在十年到二十之內發展成第二型糖尿病的比例更高達 35%到 60%[24],其餘如高血壓疾病、代謝疾病或是心血管疾病亦有提升的風險[25]。妊娠糖尿病患的下一代在未來也會有較高的機率發生過胖、第二型糖尿病以及心血管疾病,甚至在懷孕的過程中較容易發生妊娠糖尿病,進而形成世代間的惡性循環。[26-29]

1.4 妊娠糖尿病的診斷標準

各國確診妊娠糖尿病患的診斷標準不同，每個方式各有不同臨界值，也呈現在各國相異的發生率數據上。本研究根據妊娠糖尿病國際研究學會（International Association of Diabetic Pregnancy Study Group, IADPSG）以單一階段 75 克口服葡萄糖耐受測試法為 24 週到 28 週孕婦進行產前的例行篩檢，以利於提早發現，提早預防。單一階段 75 克口服葡萄糖耐受測試法的流程為在空腹情況下，先抽第一次靜脈血來測試空腹血糖值，再喝下 75 克糖水並在接下來的一個小時及兩個小時各自抽血驗血糖值，若有任一個或一個以上的血糖數值超過或等於臨界值（表一），則能確診為妊娠糖尿病的病患。[1]

表一、各個時間點靜脈血血糖標準值

時間 \ 血糖值	mg/dl	mmol/l
空腹	< 92	< 5.1
一小時	< 180	< 10
兩小時	< 153	< 8.5

1.5 妊娠糖尿病的疾病管理

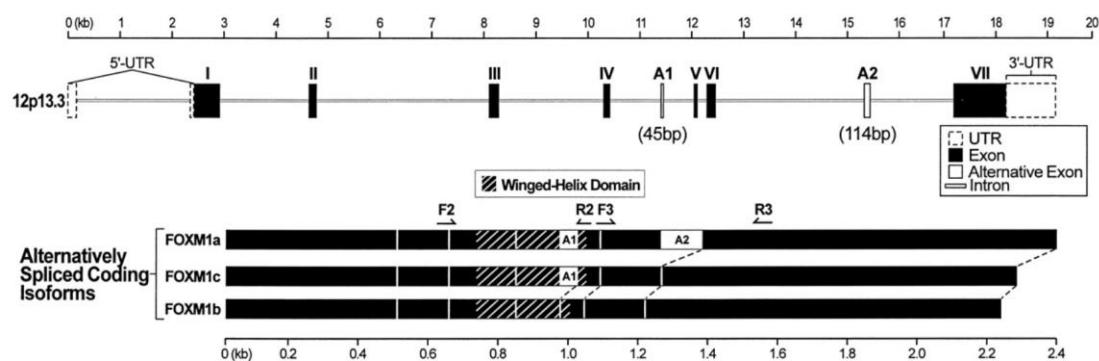
目前針對妊娠糖尿病的治療主要以介入患者生活習慣為主，會在營養師的協助下讓患者了解自身飲食限制及選擇並建立或加強運動的習慣。除了醫院定期的回診監測，教導患者自行執行血糖監測也是很重要的，不只限於空腹血糖，一般是建議測飯後二小時的血糖並實際紀錄。若定期監測結果顯示一般性措施未能有效控制血糖或影響到胎兒的生長，則有必要施行胰島素療法。[30]

1.6 FOXM1(Forkhead box protein M1)基因介紹

Forkhead Box (Fox) 蛋白家族的轉錄因子，其蛋白質序列在演化上皆保留了相似的 Forkhead DNA 結合域，此結合域的片段大小約為 80 到 100 個胺基酸的

長度，因其二級結構摺疊出類似蝴蝶的迴路，亦稱為 Winged Helix DNA 結合域。根據 Forkhead DNA 結合域序列的同源性，可將屬於 Forkhead Box (Fox) 蛋白家族的轉錄因子分類成 17 個次家族，包含 FOXA~Q，而本文所關注的就是 FOXM1 蛋白。

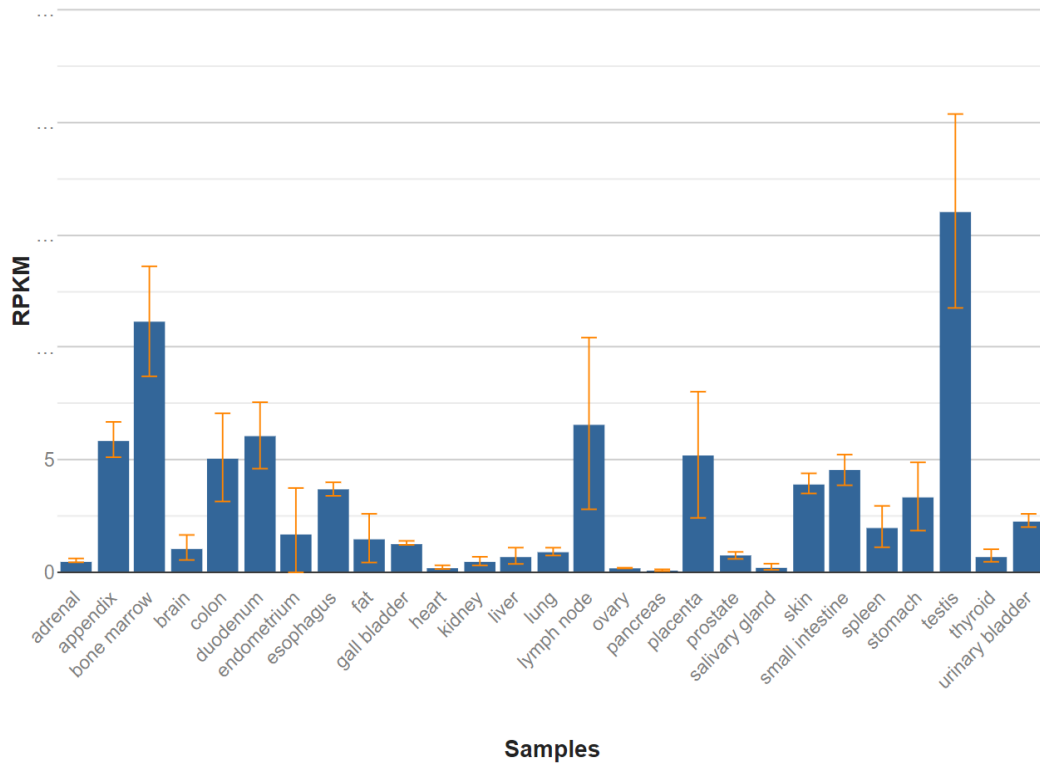
人類 FOXM1 基因序列全長約 19.5Kb，共含 10 個外顯子，mRNA 長度根據其 alternative splicing 的結果長度約為 2.2-2.4 kb，座落於第 12 號染色體長臂的反股上，其 Forkhead DNA 結合域為第 4 到第 7 外顯子的區間，是典型控制生長的轉錄因子。主要調控控制細胞週期中 G1 期到 S 期轉換的基因和 G2 期到 M 期轉換的基因[31]，與細胞生長、組織修復及腫瘤生成的過程息息相關。在哺乳類中，FOXM1 基因有三種不同的 mRNA 異構物，包括 FOXM1a~c，其中 FOXM1a 不具轉錄活性，而 FOXM1b 及 FOXM1c 因為兩者的差別僅在 DNA binding domain 上是否擁有 A1 這一片段來區分，目前不知此差異是否會影響二者對於下游所控管的基因具有相同的 DNA binding 專一性或是有一樣的蛋白質交互作用特性，通常 FOXM1 所指的通常為 FOXM1b 所執行的生物功能。[32-35] (如圖一、)



圖一、FOXM1 基因結構及其異構物

資料來源：Teh, M.-T., et al., FOXM1 is a downstream target of Gli1 in basal cell carcinomas. *Cancer research*, 2002. 62: p. 4773-80.[35]

在發育中的胚胎中，FOXM1 會被廣泛地表達[33, 34, 36]，但在停止細胞分裂的組織中表達量就會急劇減少。在成人體內，FOXM1 侷限表達在需要不斷更新細胞或細胞分裂的器官中，如胸腺、睪丸、小腸以及直腸等[34, 37]，且在受傷的組織中 FOXM1 基因亦會被重新活化來促進細胞生長及修復。[34, 38-40](如圖二)

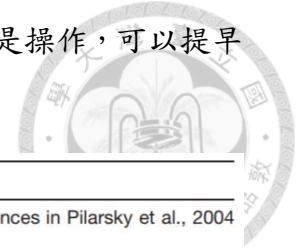


圖二、FOXM1 基因在成人不同組織中的表現量

資料來源：<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2305> (NCBI 資料庫)

過去文獻指出在缺乏 FOXM1 基因的多倍體或異常染色體套數的細胞中，細胞雖會進入有絲分裂期，卻因為紡錘體的功能缺陷而造成細胞死亡。除此之外，若以外力干擾的方式，如游離輻射、紫外線或藥物刺激等造成細胞 DNA 的斷裂，FOXM1 的表達量也會有上升的趨勢，顯示了 FOXM1 在維持基因體的穩定中扮演重要的功能。在各類型癌症中，包含肝癌、乳癌、皮膚癌及胰臟癌等，皆可發現 FOXM1 蛋白質過量表達的一致結果。[41-44](如圖三)也因為其在無論細胞週期進程、細胞分化、DNA 修復及血管新生等中皆有參與，成為了近年癌症研發

藥物以及預防的重點基因，期望透過 FOXM1 表達量的監控或是操作，可以提早發現細胞癌化的徵兆或是抑制癌細胞的增長。



Tumor with FOXM1 overexpression	References
Hepatocellular carcinoma (HCC)	Okabe et al., 2001; Kalinina et al., 2003; References in Pilarsky et al., 2004
Intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC)	Obama et al., 2005
Pancreatic adenocarcinoma	Nakamura et al., 2004; References in Pilarsky et al., 2004
Gastric adenocarcinoma	References in Pilarsky et al., 2004
Colon adenocarcinoma	References in Pilarsky et al., 2004; Yoshida et al., 2007
Lung adenocarcinoma [non-small cell lung cancer (NSCLC)]	Garber et al., 2001; Kim et al., 2006
Lung squamous cell carcinoma (NSCLC)	References in Pilarsky et al., 2004; Kim et al., 2006
Anaplastic astrocytoma (WHO grade III) and glioblastoma (grade IV)	van den Boom et al., 2003
Glioblastoma multiforme (GBM, WHO grade IV)	Rickman et al., 2001; Liu et al., 2006
Basal cell carcinoma (BCC)	Teh et al., 2002
Breast carcinoma	Perou et al., 2000; Sorlie et al., 2001; References in Pilarsky et al., 2004; Wonsey and Follettie, 2005
Ovarian adenocarcinoma	References in Pilarsky et al., 2004
Uterine cancer	Pilarsky et al., 2004
Cervical cancer	Pilarsky et al., 2004
Prostate adenocarcinoma	References in Pilarsky et al., 2004; Kalin et al., 2006
Testicular cancer	Pilarsky et al., 2004
Bladder carcinoma	References in Pilarsky et al., 2004
Renal cell carcinoma	References in Pilarsky et al., 2004

圖三、各式癌別中 FOXM1 基因過量表達的報導

資料來源：Wierstra, I., & Alves, J., FOXM1, a typical proliferation-associated transcription factor. *Biological Chemistry*, 2007. 388(12). doi:10.1515/bc.2007.159 [45]

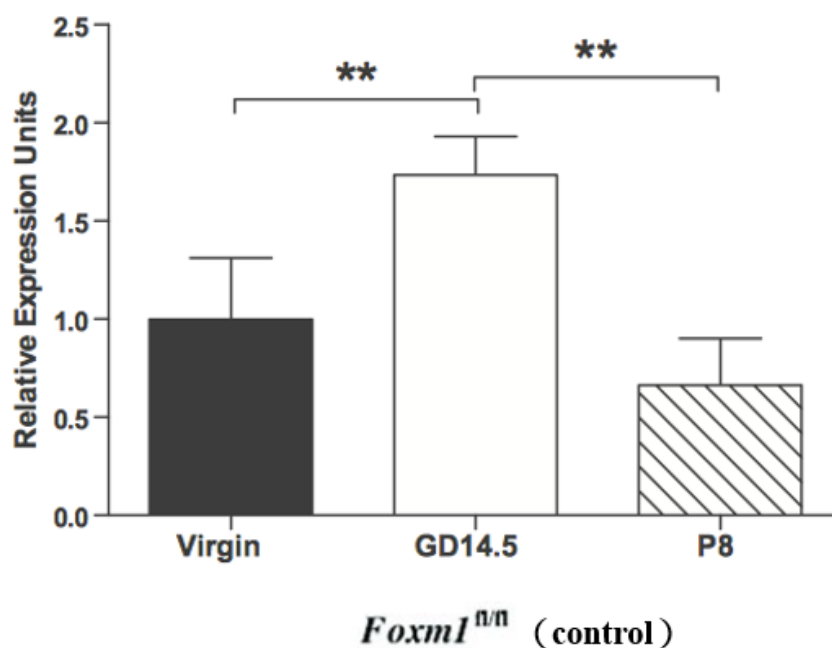
然而，越來越多轉殖小鼠試驗顯示在細胞分裂中的組織細胞雖皆可測得 FoxM1 基因的表達，但若反之將 FoxM1 基因剔除並不會完全抑制細胞的生長。以 FoxM1^{-/-}小鼠胚胎來說，無法活產的小鼠身上多種器官發育良好，僅在心臟、肝臟、肺臟及一些血管組織發現發育或分化不全現象[46-48]，這暗示著 FoxM1 雖然廣泛表達在各個正在分化或生長的組織或器官中，但其在不同的細胞類型中扮演著不同的角色。

1.7 妊娠糖尿病與人類 FOXM1 基因可能的關係

人類胰臟是兼具內、外分泌功能的腺體，內分泌功能主要由胰島來執行。胰島散佈在胰臟中，由五種賀爾蒙分泌細胞組成，包含 α 細胞、 β 細胞、 δ 細胞、 ϵ 細胞以及 PP 細胞，其中由 α 細胞和 β 細胞所分泌的升糖素及胰島素對於血糖

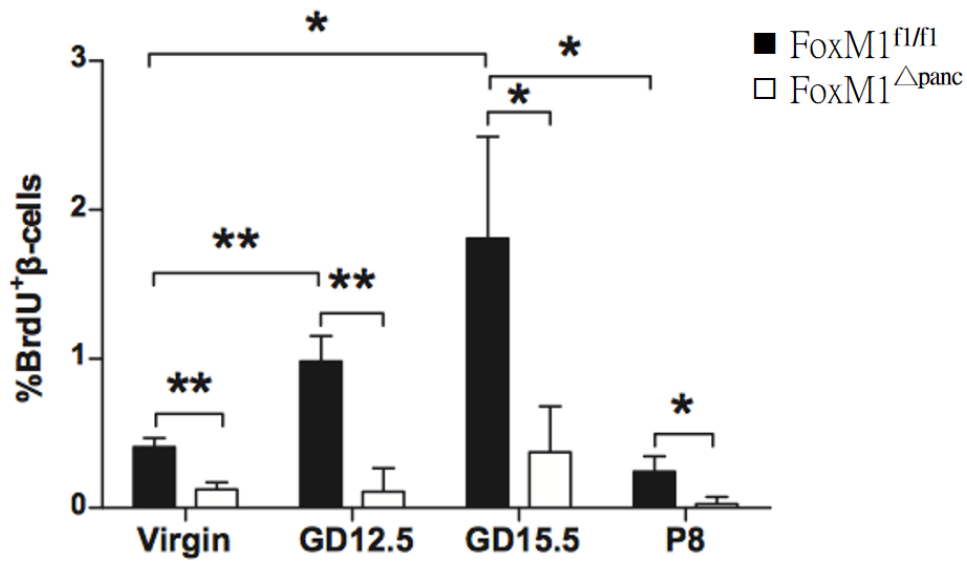
恆定尤其重要。 β 細胞數量在體內是透過不斷的生長（增生及新生）和凋亡來達成動態平衡，且在人體成年後，細胞數量是非常穩定的，僅擁有約1%到4%的輪替率(turnover rate)，且細胞數量的整體趨勢為緩慢增加的。[49, 50]當面對體內特殊生理需求，如出生後發育、懷孕或部分胰臟切除等時， β 細胞就會在數量或質量上出現改變來應對。

FoxM1 基因在多篇小鼠文獻中皆被報導對於維持胰臟 β 細胞質量以及 β 細胞擴增扮演重要角色。一般的母鼠 (FoxM1^{f1/f1}) 從尚未懷孕到懷孕和產後，以產前作為基準點，FoxM1 mRNA 表達量會有一個先上升後下降的趨勢，懷孕過程中 FoxM1 mRNA 表達量會比一般正常的母鼠多 1.7 倍並在產後恢復到產前的水準，並且此現象也符合 beta cell 由產前到產後會有先擴增產後再恢復產前狀態的現象。(如圖四和圖五) [51]



圖四、FoxM1 基因在懷孕過程中 mRNA 表達量上升

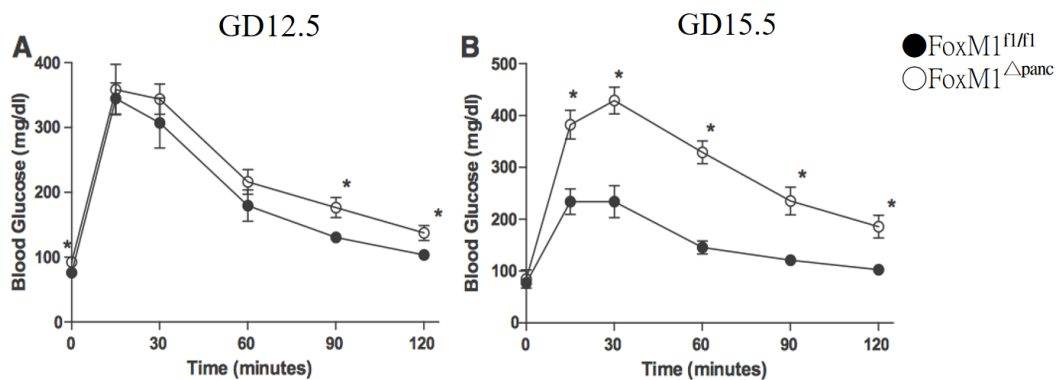
資料來源：Zhang, H., et al., Gestational diabetes mellitus resulting from impaired beta-cell compensation in the absence of FoxM1, a novel downstream effector of placental lactogen. Diabetes, 2010. 59(1): p. 143-52.



圖五、FoxM1^{Δpanc}母鼠的β細胞減少生長。

資料來源：Zhang, H., et al., Gestational diabetes mellitus resulting from impaired beta-cell compensation in the absence of FoxM1, a novel downstream effector of placental lactogen. *Diabetes*, 2010. 59(1): p. 143-52.

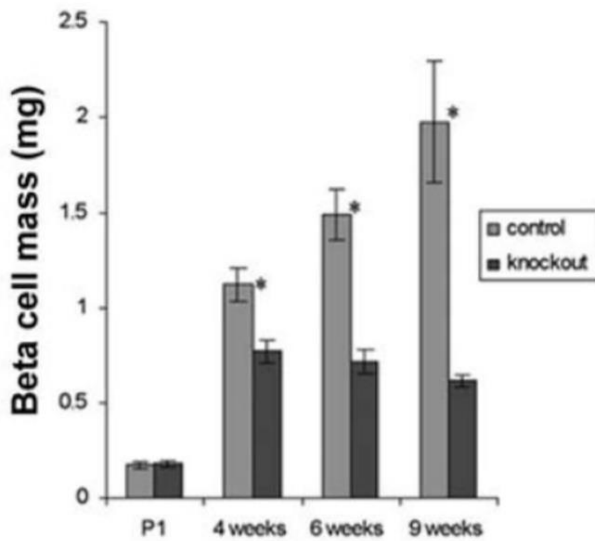
但若在胚胎時期就將母鼠胰臟的 FoxM1 基因條件式剔除 (FoxM1^{Δpanc})，則儘管在胎盤泌乳素的刺激下，會發現 FoxM1^{Δpanc} 母鼠的 β 細胞在懷孕過程中無論是質量方面或是胰島素分泌量都無法順利擴增 (如圖五)，並反映在血糖調節的能力上，產生與人類相似的葡萄糖不耐症以及妊娠糖尿病的現象 (如圖六)。[51] 以老鼠完整孕期為 20 天來看，開始發展出葡萄糖不耐症的孕期是落在第二至第三孕期，與人類好發妊娠糖尿病的時機相似。



圖六、FoxM1^{Δpanc}母鼠分別在GD12.5和GD15.5發產出葡萄糖不耐症和妊娠糖尿病。

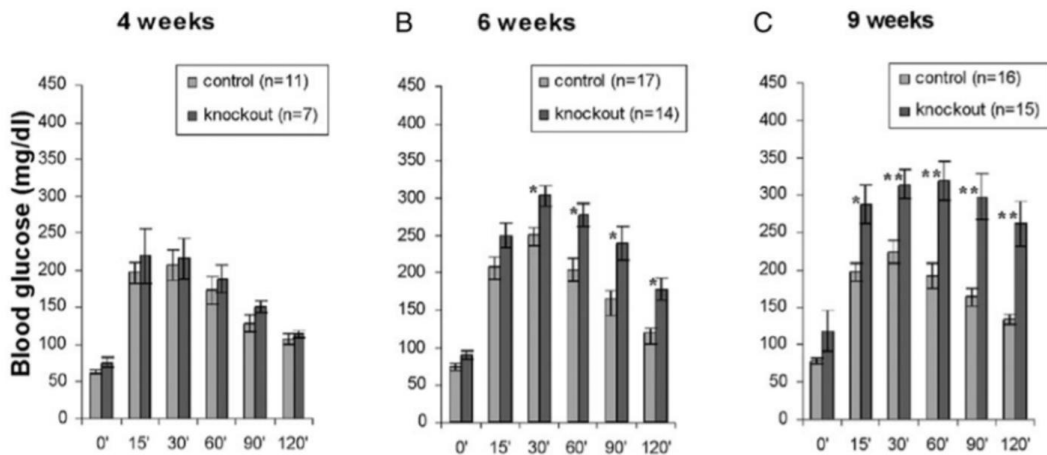
資料來源：Zhang, H., et al., *Gestational diabetes mellitus resulting from impaired beta-cell compensation in the absence of FoxM1, a novel downstream effector of placental lactogen*. *Diabetes*, 2010. **59**(1): p. 143-52.

同樣的，胚胎時期胰臟 FoxM1 基因被條件式剔除 (FoxM1^{Δpanc}) 的公鼠雖不像 FoxM1^{Δpanc} 的母鼠有明顯需要 beta cell 擴增的時期，但觀察公鼠的層面轉變成隨著年齡的增長，beta cell 是否依然能維持正常的大小和功能。研究結果顯示 FoxM1^{Δpanc} 的公鼠雖會在與一般無異的 β 細胞質量狀態下順利活產，但隨著鼠齡的增加，其 β 細胞質量無法像一般的老鼠一樣順利擴增，並於第九週時 β 細胞質量已少對照組 75%，並發展出糖尿病。(如圖七和圖八) [52] 另外，有趣的是研究顯示 β 細胞的增長能力會隨著老化而衰退，正也反映了第二型糖尿病發生率隨著年齡的提升而增加的現象。[53]



圖七、FoxM1^{Δpanc} 公鼠的 Beta 細胞質量無法隨著年齡擴增。

資料來源：Zhang, H., et al., *The FoxM1 transcription factor is required to maintain pancreatic beta-cell mass*. Mol Endocrinol, 2006. **20**(8): p. 1853-66.

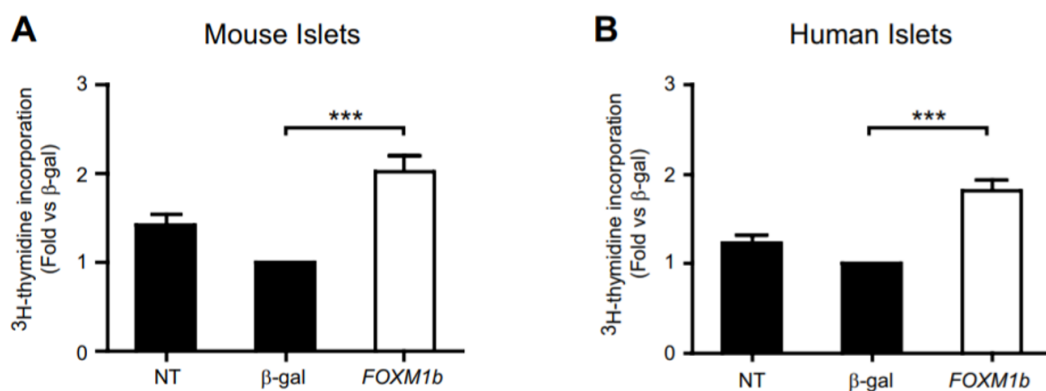


圖八、FoxM1^{Δpanc} 公鼠在第九週時發展出糖尿病。

資料來源：Zhang, H., et al., *The FoxM1 transcription factor is required to maintain pancreatic beta-cell mass*. Mol Endocrinol, 2006. **20**(8): p. 1853-66.

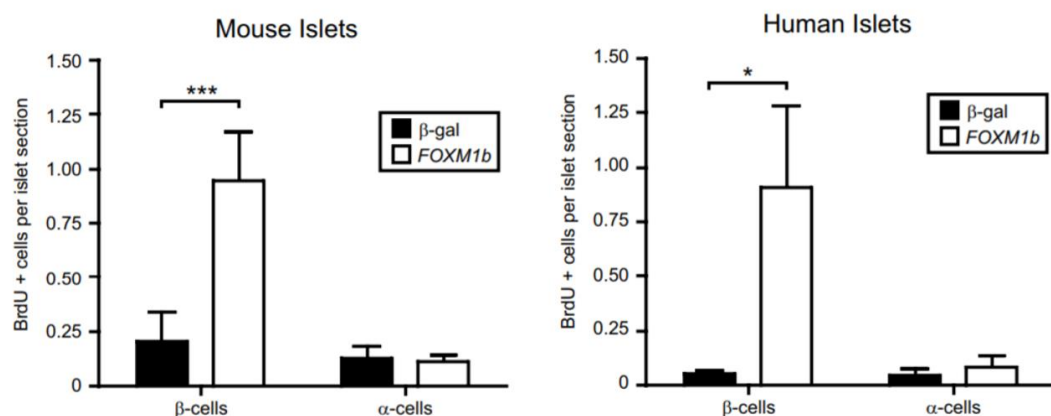
對胰臟 FoxM1 基因條件式剔除 (FoxM1^{Δpanc}) 小鼠進行胰臟 60% 部分切除手術後，與控制組相較其 β 細胞的生長明顯遲滯，且在 α 細胞上也發現一樣趨勢，但胰臟外分泌細胞的生長卻不受影響，由此結果除了可知 FoxM1 對於 β 細胞增殖的

必要性，更顯現出 FoxM1 基因功能的細胞特異性。[54]在分離出來的完整小鼠及人類的胰島中過度表達 Foxm1 基因，並觀測各組織 [³H]thymidine 的相對使用量及進行 BrDU 染色，發現以過量表達 beta gal 做為對照組，在老鼠胰島過量表達 FoxM1 的細胞成長比例會較對照組高出兩倍，而在人類胰島中則高出 1.8 倍，並且所增加的細胞類型為 β 細胞（如圖九和圖十），可知單純的 FoxM1 基因過量表達，已足以使胰島中的 beta cell 增長，這也展現了一個未來對糖尿病治療的可能方針。[55]



圖九、過量表達 FoxM1 基因能刺激胰島細胞生長

資料來源：Davis, D.B., et al., *FoxM1 is up-regulated by obesity and stimulates beta-cell proliferation*. Mol Endocrinol, 2010. 24(9): p. 1822-34.




圖十、過量表達 FoxM1 基因能刺激 β 細胞生長。

資料來源：Davis, D.B., et al., *FoxM1 is up-regulated by obesity and stimulates beta-cell proliferation*. Mol Endocrinol, 2010. 24(9): p. 1822-34.

以上試驗都反映著 β 細胞的生長和 FoxM1 基因密不可分的關係，也暗示著人體內 β 細胞擴增的分子機轉。雖然目前尚未對於妊娠糖尿病的機轉有全盤的瞭解，但是隨著懷孕孕期進展，已知各類賀爾蒙會開始產生變化，包括黃體素、動情素以及人體胎盤泌乳素等。其中人類胎盤泌乳素的升高，會使母體內的胰島素阻抗上升，碳水化合物不容易被儲存或轉換成脂肪，對於胎兒來說該激素扮演著生長激素的角色，使胎兒能從母體獲得更多的養分，但是當母體的胰島素需求變高，又無法順利平衡體內血糖時，就會慢慢發展成妊娠糖尿病。

第二章 研究目的及動機



藉由以上所探討的文獻可知 FoxM1 對於 β 細胞擴增的必要性，但目前研究僅止於小鼠的動物試驗研究，尚未有相關研究證實是否在人體亦是透過相同的機制來調控 β 細胞，而在本研究中假設 FOXM1 表達量的提升暗示著 β 細胞得以順利擴增為前題來進行試驗結果的分析及探討。一般孕婦隨著 HPL 的分泌量增加其胰島素阻抗也會慢慢增加，而 Beta 細胞會透過 FOXM1 基因的活化來完成擴增，胰島素分泌量得以隨之上升，以達到血糖的恆定。那相對於妊娠糖尿病患個案體內是否因為更多的 HPL 分泌量，造成比一般孕婦更高的胰島素阻抗，但 beta cell 卻無法順利擴增或擴增的幅度不夠，致使胰島素分泌量不足，並反映在血糖失衡的結果上。然而由於人類胰臟組織取得不易，因此本研究欲比較妊娠糖尿病孕婦和非妊娠糖尿病孕婦的周邊血中的 FOXM1 mRNA 表達量是否有差異。

患有妊娠糖尿病的孕婦的胎兒由於母體胰島素無法通過胎盤，所以必須自己生成較一般胎兒更多的胰島素來應付高糖環境，因此預期其 beta cell 必須有更強的胰島素分泌能力或擴增幅度，但因無法直接取得胎兒胰臟組織，因此透過比較高糖環境下的胎兒與一般環境下的胎兒臍帶血中 FOXM1 mRNA 的表達量來分析兩者是否有顯著差異，同時偵測兩組臍帶血血清 glucose、C-peptide 的量，並計算 HOMA-IR 的值。

第三章 研究方法



3.1 研究對象

3.1.1. 受試者來源與收案標準

招募 2018 年 8 月 1 日到 2019 年 7 月 31 日間, 於台大醫院門診進行口服葡萄糖耐受性試驗結果判定為妊娠糖尿病之成年孕婦 20 名以及非妊娠糖尿病之成年孕婦 63 名, 並收集前者妊娠糖尿病患者與非妊娠糖尿病孕婦產後之胎兒臍帶血, 受試對象共計 166 名。本研究受試者納入條件為 20 歲以上(含)懷孕之女性, 並於 24 週到 28 週孕期期間進行口服葡萄糖耐受性試驗, 結果判定為妊娠糖尿病或非妊娠糖尿病之孕婦及其胎兒; 排除條件為懷孕前即有明顯糖尿病病史之女性以及任何年齡層之男性。

3.1.2 同意書的簽署

受邀請加入「201806017RINC FOXM1 基因在妊娠糖尿病患者週邊血及臍帶血中之表現」的受試者, 會簽署台大倫理委員會規範之「國立台灣大學醫學院附設醫院臨床試驗／研究受試者說明及同意書」乙份。(如附錄一)

3.2 檢體來源

抽取第三孕期孕婦及剛出生嬰兒受試者周邊靜脈血液或臍帶血約 10 毫升, 分別置於 3 毫升 NaF 灰頭管、3 毫升 EDTA 紫頭管以及 6 毫升無抗凝劑的紅頭管中, 存放於 4°C 冰箱, 並盡量於 24 小時內完成 RNA 的前處理。

3.3 研究方法

3.3.1 白血球、血漿及血清的製備

將紫頭管以 2000g 離心 10 分鐘, 用吸管小心移除上清液, 吸取約 0.5 ml 的 buffy coat。接著將 buffy coat 加入含有 2.5 ml RBC lysis buffer 的 15 毫升離心管中, 上下緩合搖晃混勻, 作用約 5 分鐘, 有時因取 buffy coat 時所

含的紅血球量較多亦可以目測混合液作用至透光為止。以 2500g 離心五分鐘，若沉澱物呈現粉紅色則需重複前步驟直至沉澱物呈現白色，之後移除上清液，利用 pipette 將沉澱物攪散，再加入 1 ml 冰的 TRIzol LS Reagent 作用，拍打管身到白血球完全破裂，看不到任何沉澱物。之後將作用好的細胞均質液移至以編碼好的微離心管中，存於-80°C 冰箱以利後續抽取總 RNA 使用。

灰頭管及紅頭管一同離心 3000rpm 十分鐘，小心將血漿及血清分別取 500 μ l 及 100 μ l 至編碼好的微離心管中，存放於-20°C 冰箱。

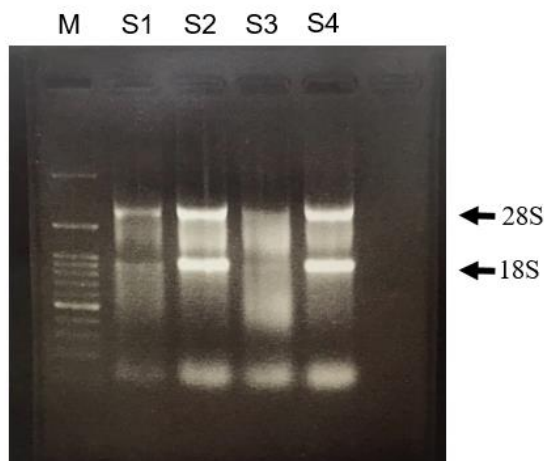
3.3.2 抽取總 RNA

將存放於-80°C 冰箱細胞均質液樣本放置於冰上退冰，加入 0.2 ml chloroform (per 0.75ml TRIzol LS Reagent)，確實帶上蓋子，上下劇烈混勻，室溫靜置 3 分鐘後，4°C 離心 12000g，15 分鐘。傾斜 45 度角，抽取透明上層水層移至新的離心管中，並加入 0.5 ml 的 isopropanol (per 0.75ml TRIzol LS Reagent) 與水層混合。室溫靜置 10 分鐘後，4°C 離心 12000g，10 分鐘。丟棄上清液，加入 0.4 ml 75% ethanol (per 0.75ml TRIzol LS Reagent)，簡單 vortex 混合後 4°C 離心 12000g，5 分鐘，此步驟重複兩次。倒除酒精上清液，倒立微離心管，使 pellet 變乾(靜置五分鐘即可, 不可以太乾)。加入 20-50 μ l DEPC 水回溶 RNA，冰上作用 10 分鐘，60°C 水浴 5-10 分鐘後，存於-80°C 冰箱備用。

3.3.3 確認 RNA 品質與定量

使用 Nanodrop 2000 spectrometer 來檢測核酸品質。將 0.5 μ l 溶解均勻的 RNA 樣本滴於檢測位點上，在核酸模式下偵測波長 260nm、280nm 以及 230nm，其分別代表核酸、蛋白質以及有機鹽類。儀器數據會呈現出 260/280 比值(核酸純度)、260/230 比值(殘留鹽類)以及核酸的濃度。優質的 RNA 樣本其 260/280 比值會落在 1.8~2 之間，而 260/230 比值則落在 1.8 到 2.2 之間。透過儀器僅能夠得知樣本核酸的純度，對於核酸序列的完整度則是需要透過傳統的核酸電泳來判

讀。配置 1% 洋菜膠體 (1g Agarose + 100 ml 1XTBE buffer + 3 μ l DNA view)，將樣本 (2 μ l sample + 1 μ l 6x Loading Dye) 注入膠體，利用加長型迷你水平電泳系統以 50 伏特，90 分鐘。跑完後，以紫外線照射，並判讀照膠系統結果。(如圖十一)



圖十一、樣本總 RNA 電泳跑膠圖

註：M 為 100bp marker；S1~S4 為實驗樣本

3.3.4 反轉錄作用

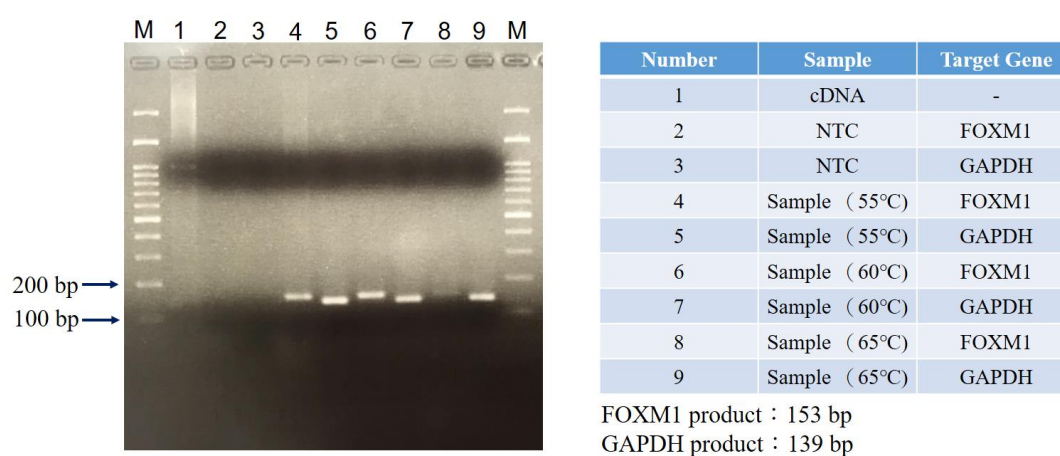
本研究採用 RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit，並將所有步驟在冰上操作。依序加入總 RNA (1 μ g)、oligo(dT)18 primer 1 μ l 以及適量的 RNase-free water 至微離心管中，共 12 μ l。在 60°C 水浴加熱五分鐘，再放置冰上 (4°C)。接著依序加入 5x Reaction buffer 4 μ l、RiboLock RNase inhibitor (20U/ μ l) 1 μ l、10 mM dNTP Mix 2 μ l 以及 RevertAid MMLV RTase (200U/ μ l) 1 μ l，共 20 μ l，混合均勻，42°C 水浴加熱 60 分鐘，接著 70°C 五分鐘，放置冰上終止反應，即可取得 cDNA，並保存於 -80°C 冰箱備用。

3.3.5 引子的設計

藉由網路上的引子設計軟體Primer3 Input (version 0.4.0)來設計。由NCBI上取得目標基因的 mRNA 序列，存取其 Fasta 檔，並將檔案放入軟體中，在設定參數後，由軟體挑選出多組引子，挑選一組最適引子(如表二)，並跑 PCR 檢測是否能抓取正確片段大小的單一產物，最終引子最適黏合溫度為 60°C (如圖十二)。

表二、目標基因引子序列

目標基因	引子序列
FOXMI Forward	GCA GGC TGC ACT ATC AAC AA
FOXMI Reverse	TCG AAG GCT CCT CAA CCT TA
GAPDH Forward	GCA CCG TCA AGG CTG AGA AC
GAPDH Reverse	TGG TGA AGA CGC CAG TGG A



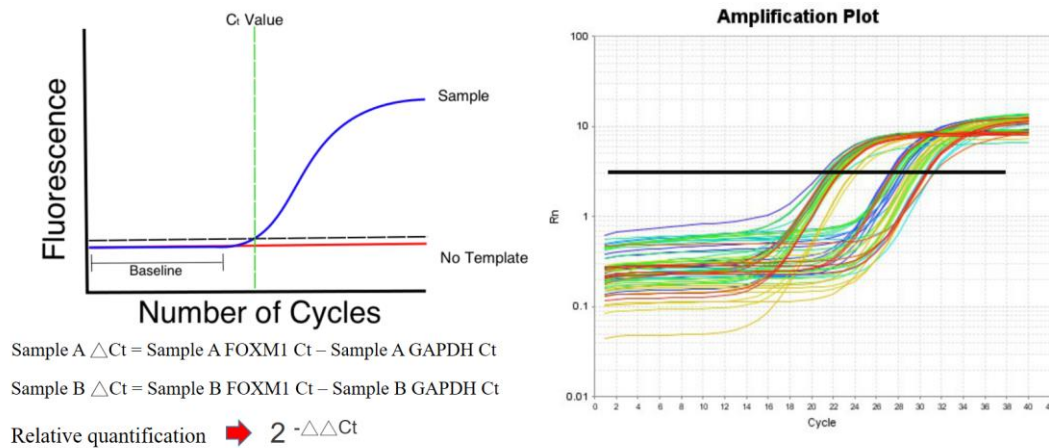
圖十二、目標引子最適作用溫度試驗

3.3.6 即時定量聚合酶連鎖反應(Real-time qPCR)

採用 Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR system 來進行上機分析。利用 primer 3 線上免費軟體設計 FOXMI 及 MCP-1 的專一性引子。以 KAPA SYBR FAST qPCR Kit Master Mix (2x)ABI prism 製備反應試劑。分別加入 2x SYBR Master Mix 10 μ l、target gene forward primer (FOXMI:500nM、MCP-1:100nM、

GAPDH:100nM)、target gene reverse primer (FOXMI:500nM、MCP-1:100nM、GAPDH:100nM)、cDNA (不超過總反應體積的 10%)以及 water, 共 25 μ l。PCR 的反應條件為 50°C 2 分鐘、95°C 10 分鐘、95°C 15 秒、60°C 1 分鐘, 其中 95°C 15 秒、60°C 1 分鐘重複 40 個循環。

數據結果以相對定量的方式計算。分別將實驗組以及對照組的 Ct 值進行校正, Ct (target gene) - Ct (internal control)得到 Δ Ct(calibrated), 之後再進行 Δ Ct(實驗組)- Δ Ct(對照組)來得到 $\Delta\Delta$ Ct, 帶入 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 得到實驗組與對照組間目標基因表達量的倍數關係(如圖十三)。



圖十三、Real-time PCR 相對定量定量基因擴增圖

3.3.7 相關檢驗數據

將製備好的血漿及血清外送台北病理中心做 C-peptide、Glucose 以及 insulin 的濃度相關測定。HOMA-IR 數值則以 (insulin(uU/mL) X Glucose(mg/dL))/405 公式計算。

3.3.8 數據統計方法

資料皆已以平均值±標準差的形式來呈現分佈情形，並以 IBM SPSS statistic 資料編輯器分析樣本是否呈現常態分布，若成常態則以獨立樣本 T 檢定 (Student's unpaired t test) 執行統計，若非常態則使用獨立樣本 Mann-whitney U test (Wilcoxon test) 無母數統計分析。α level 定在 P<0.05 (雙尾) 作為顯著臨界值。另外，以 Pearson coefficient 來描述兩連續變項間的線性相關性。

第四章 研究結果



4.1 研究結果的圖表

4.1.1 孕婦與妊娠糖尿病相關的臨床參數特性

本研究共收錄 83 名孕婦，其中包含 63 名非妊娠糖尿病患及 20 名妊娠糖尿病患。非妊娠糖尿病患的平均年齡為 33.3 歲，懷孕前平均 BMI 為 21.3 kg/m²，第三孕期 BMI 隨著體重的增加提高至平均 25.5 kg/m²，增長的幅度約為 4.17 kg/m²；妊娠糖尿病患的收案年齡平均為 33.5 歲，懷孕前平均 BMI 為 23.18 kg/m²，第三孕期平均 BMI 來到 27.31 kg/m²，前後漲幅約為 3.9 kg/m²。兩組樣本間懷孕前及懷孕後的 BMI 以獨立樣本 T 檢定雙尾模式分析，可分別得到 0.038 和 0.027 的 P 值，小於所設臨界值 0.05，呈現顯著的分析結果。(如表三)

表三、孕婦與妊娠糖尿病相關的臨床參數

變數	非妊娠糖尿病患	妊娠糖尿病患	p 值
個案數目	63	20	
年齡 (年)	33.3±4.54	33.5±3.7	0.84
懷孕前 BMI (kg/m ²)	21.3±2.6	23.18±4.47	0.038*
懷孕後 BMI (kg/m ²)	25.5±2.63	27.31±4.2	0.027*
BMI 增長 (kg/m ²)	4.17±1.12	3.9±1.2	0.48
剖腹產百分比(%)	1.4	3	

註：數值皆以平均值±標準差或純值表示；BMI 為身體質量數值；以獨立樣本 T 檢定分析。(* 為 p<0.05、** 為 p<0.01、*** 為 p<0.001)

4.1.2 胎兒與妊娠糖尿病相關的臨床參數特性

本研究共收錄的 83 名孕婦所生的胎兒，依據母親是否為妊娠糖尿病患分成兩組，在數量上分別為 63 和 20 名。母親非妊娠糖尿病患的胎兒出生體重平均為 3116.4 公克，出生臍血血清中的 glucose 濃度均值為 78.6 mg/dL，而出生臍血血清 insulin 平均濃度為 7.6 uU/mL。以出生 glucose 及出生 insulin 計算出的 HOMA-IR 指數數值則為 1.58；而母親為妊娠糖尿病患的胎兒，出生體重為 3099.5

公克，出生 glucose 及出生 insulin 平均濃度分別為 77.8 mg/dL 和 8.33 uU/mL，以此兩個數值計算出的 HOMA-IR 則為 1.7。

表四、胎兒與妊娠糖尿病相關的臨床參數

變數	母親非妊娠糖尿病患	母親為妊娠糖尿病患	p 值
個案數目	63	20	
出生體重 (g)	3116.4±398.8	3099.5±401.3	0.87
出生 glucose (mg/dL)	78.6±13.69	77.8±17	0.366
出生 insulin (uU/mL)	7.6±6.15	8.33±6.92	0.917
出生 HOMA-IR	1.58±1.42	1.7±1.75	0.859

註：數值皆以平均值±標準差或純值表示樣本分布；glucose 為血糖；insulin 為胰島素；HOMA-IR 為胰島素阻抗性指數；出生體重呈常態分佈，以獨立樣本 T 檢定進行分析，顯著水準為 0.05；出生 glucose (mg/dL)、出生 insulin (uU/mL) 和出生 HOMA-IR 呈非常態分佈，以獨立樣本 Mann-whitney U test (Wilcoxon test) 統計，顯示為漸進顯著值，顯著水準為 0.05。

4.1.3 母血與臍血中 FOXM1 mRNA 相對表現量比較

將母血及臍血 FOXM1 Δ Ct 數據先利用 SPSS 系統進行常態分佈的檢定。在 Lilliefors 顯著校正的 Kolmogorov-Smirnov 檢定中，可以看到未患有 GDM 的母血及其對應臍血的檢定值分別為 0.2 及 0.095，未達顯著水準，表示數據呈現誠態分布。然而，因為患有 GDM 的母血及其對應臍血的樣本數未超過 30 例，因此改以 Shapiro-Wilk 統計量用來檢定，結果檢定量分別呈現為 0.957 和 0.673，未達顯著水準，表示樣本呈現常態分佈。（如表五）



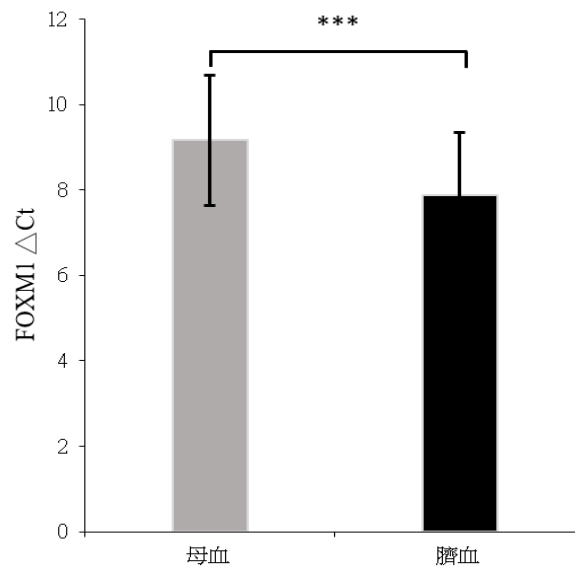
表五、常態分布檢定

	GDM	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		統計資料	自由度	顯著性	統計資料	自由度	顯著性
母血	0	.104	52	.200*	.959	52	.070
FOXMI Δ Ct	1	.133	14	.200*	.977	14	.957
臍血	0	.113	52	.095	.956	52	.053
FOXMI Δ Ct	1	.127	14	.200*	.957	14	.673

*. 這是true顯著性的下限。

a. Lilliefors 顯著性更正

經檢定各組 FOXMI Δ Ct 數據皆呈現常態分布，因此接下來各組間的相對量比較皆使用獨立樣本 T 檢定進行兩組樣本平均數檢驗來檢測。母血 FOXMI Δ Ct 為 9.16 ± 1.52 而臍血 FOXMI Δ Ct 為 7.88 ± 1.44 ，兩組統計檢驗 P 值呈現 $5.83002E-07$ ，大幅小於臨界值，達顯著水準。(如圖十四)



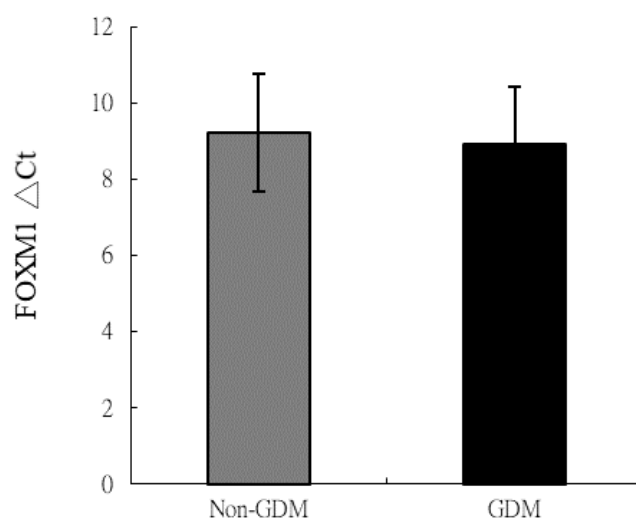
圖十四、母血與臍血 FOXMI mRNA 相對表現量

以獨立樣本 T 檢定進行兩組樣本平均數檢驗 (* 為 $p < 0.05$ 、** 為 $p < 0.01$

、*** 為 $p < 0.001$)，RT-qPCR 相對倍數計算公式為 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

4.1.4 母血和臍血在有無妊娠糖尿病的狀態下相對表現量的比較

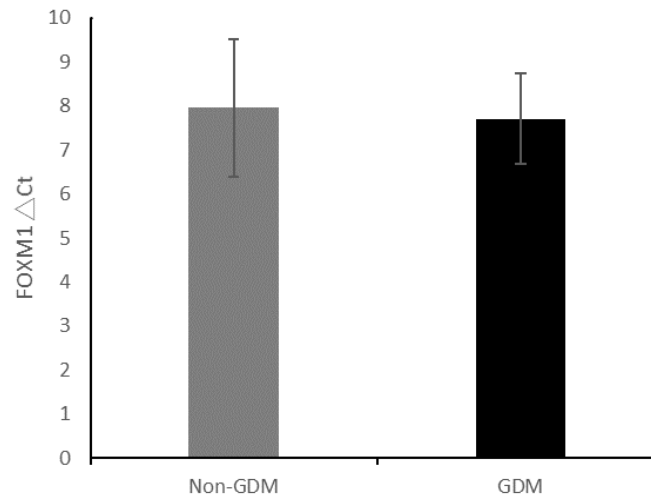
將以有無 GDM 來分組的母血及臍血樣本兩兩相互比較。無 GDM 母血樣本 FOXM1 Δ Ct 為 9.2 ± 1.53 ，而有 GDM 母血樣本 FOXM1 Δ Ct 為 8.92 ± 1.48 ，兩組間 P 值檢定量呈現 0.504，遠大於臨界值，未達顯著水準，代表有無 GDM 的母血在 FOXM1 Δ Ct 上並未有統計明顯的差異。（如圖十五）



圖十五、母血有無妊娠糖尿病的 FOXM1 mRNA 相對表現量

Non-GDM 代表無妊娠糖尿病孕婦，GDM 代表妊娠糖尿病孕婦。以獨立樣本 T 檢驗進行兩組樣本平均數檢驗（* 為 $p < 0.05$ 、** 為 $p < 0.01$ 、*** 為 $p < 0.001$ ），RT-qPCR 相對倍數計算公式為 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

同樣，無 GDM 臍血樣本 FOXM1 Δ Ct 為 7.95 ± 1.56 ，而有 GDM 臍血樣本 FOXM1 Δ Ct 為 7.7 ± 1.02 ，兩組間 P 值檢定量呈現 0.416，遠大於臨界值，未達顯著水準，代表有無 GDM 的臍血在 FOXM1 Δ Ct 上並未有統計明顯的差異。（如圖十六）



圖十六、臍帶血有無妊娠糖尿病的 FOXM1 mRNA 相對表現量

Non-GDM 代表母親無妊娠糖尿病的胎兒，GDM 代表母親有妊娠糖尿病的胎兒。以獨立樣本 T 檢驗進行兩組樣本平均數檢驗（* 為 $p < 0.05$ 、** 為 $p < 0.01$ 、*** 為 $p < 0.001$ ），RT-qPCR 相對倍數計算公式為 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

4.1.5 臍血 FOXM1 Δ Ct 與各變項間的線性關係

將臍血 FOXM1 Δ Ct 利用 Pearson coefficient 檢定來分析其與寶寶出生體重、臍血血清 C-peptide(ng/mL)以及 HOMA-IR 間，兩兩可能存在的線性關係。分析結果發現臍血 FOXM1 Δ Ct 與寶寶出生體重間相關性最高，相關指數為 -0.29，呈現負相關。(如表六)

表六、臍血 FOXM1 Δ Ct 與各變項間的相關係數

	臍血 FOXM1 Δ Ct	出生體重	臍血 C-peptide(ng/mL)	HOMA-IR index
臍血 FOXM1 Δ Ct	1			
寶寶出生體重	-0.295872849	1		
C-peptide(ng/mL)	0.156346846	-0.022873202	1	
HOMA-IR	-0.01187988	-0.056033229	0.261441636	1

註:C-peptide 為臍血 C 胜肽;HOMA-IR 為胰島素阻抗性指數;以 Pearson coefficient 分析各組可能的線性關係。

第五章 討論



5.1 研究結果的討論

本研究中總共招募 83 位第三孕期的孕婦，其中包括 63 位正常孕婦（控制組），20 位妊娠糖尿病患者（研究組）。患者確診後皆有進行血醣的例行追蹤，並全數以飲食控制治療，未有需要施打胰島素的個案。

5.1.1 孕婦與妊娠糖尿病相關的臨床參數特性

控制組及研究組的基本臨床參數在表三中呈現。兩組取樣年齡相似，但懷孕前和後 BMI 可發現研究組數值皆高於控制組，並在統計上有顯著差異。另外，在研究組中有較高的剖腹產比例，與過去文獻報導相符。[56]但在實驗組僅 20 人的情況下，可能會展現不出該族群原始的臨床數值特性，單一個案的極值，就有可能影響整體樣本的趨勢。

5.1.2 胎兒與妊娠糖尿病相關的臨床參數特性

胎兒與妊娠糖尿病相關的臨床參數在表四中呈現。有無妊娠糖尿病的母親所生下的胎兒在出生體重、出生 glucose (mg/dL)、出生 insulin (uU/mL) 以及出生 HOMA-IR 上皆無統計明顯的差異。此外，由臍血所量測的胎兒出生 glucose (mg/dL) 和出生 insulin (uU/mL)，因母體生產前無需空腹，因此研究數據使否能作為胎兒空腹血糖及空腹胰島素數據仍有爭議。

5.1.3 母血與臍血中 FOXM1 mRNA 相對表現量比較

母血為在孕期 37 ± 1 週時採集並檢測相關數值，而臍血則是在產後隨即採集。透過常態分析檢定，可知母血及臍血 FOXM1 mRNA ΔC 值呈常態分佈（表五），因此以獨立樣本 T 檢定做為統計工具。以 RT-qPCR 相對倍數計算公式 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 計算 FOXM1 mRNA 的相對表現量在母血 ($\Delta C_t = 9.16 \pm 1.52$) 及臍血 ($\Delta C_t = 7.88 \pm 1.44$) 的差異，則可發現臍血中 FOXM1 mRNA 表現量為母血中的 2.4 倍左右，並在統計上具有顯著的差異(如圖十四)，這項結果符合過去研究顯示 FOXM1

在發育中的胚胎中大量表達的現象。

5.1.4 母血和臍血在有無妊娠糖尿病的狀態下相對表現量的比較

母血樣本中控制組及研究組的 FOXM1 mRNA 相對表現量分別為 9.2 ± 1.53 以及 8.92 ± 1.48 ，兩者間在統計上並無顯著差異。(如圖十五) 可能原因為兩組樣本數不均，且本研究採血檢測時機為第三孕期，目前經確診後的患者會進行嚴格的血醣控管，可能因此縮小了兩組間在臨床參數上的特性。而臍帶血樣本在控制組及研究組的 FOXM1 mRNA 相對表現量分別為 7.95 ± 1.56 和 7.7 ± 1.02 ，兩者間在統計上亦無顯著差異。(如圖十六) 可能原因為母體經過血糖控制後，進而改善胎兒子宮內高醣的環境，造成 GDM 胎兒在出生時不會有明顯的體型過大以及胰臟負擔較高的情形，因此無法觀察到高醣環境下 FOXM1 在兩組間可能的變化。

另外，有無 GDM 兩組間在 FOXM1 基因表達量上雖無顯著差異，但因足月的媽媽生產前無須空腹，無法確認兩組間胰島素阻抗的大小，所以不排除因 GDM 媽媽有更強的胰島素阻抗，就算 beta cell 有正常擴增，但若幅度不夠，則依然會造成胰島素分泌量不足的結果。

5.1.5 臍血 FOXM1 ΔCt 與各變項間的線性關係

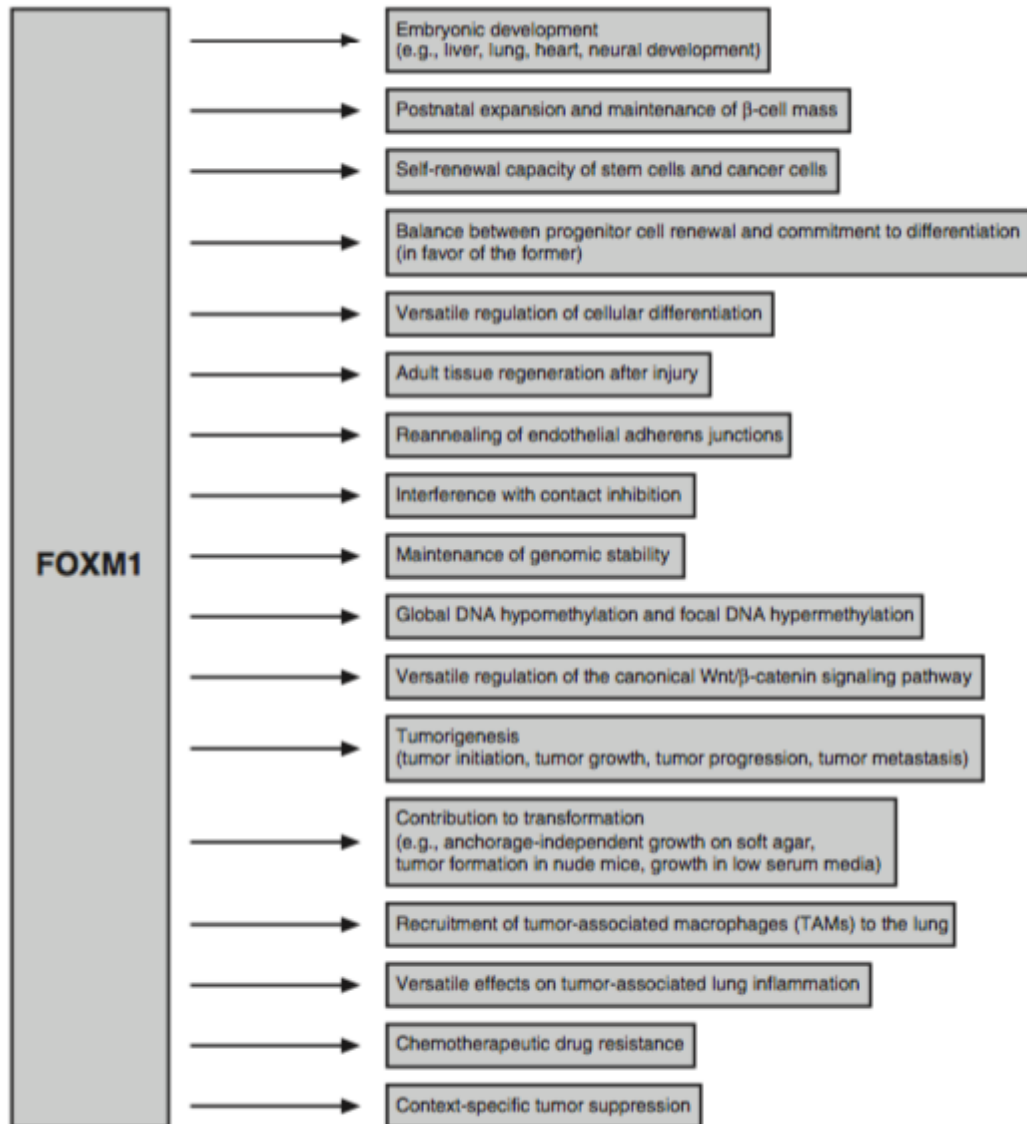
本研究中也關心是否臍帶血中的 FOXM1 mRNA ΔCt 值可預測出寶寶生長重量大小、胰島分泌 C-peptide 的能力或是胎兒的胰島素阻抗的高低，但以 Pearson coefficient 分析後發現個變相間並無存在線性關係。(表六)

最後但也最重要的一點，FOXM1 基因在成人體內不同組織中表達量差異甚大，在面對高糖環境的刺激，該基因在胰臟的表達模式跟血液白血球中的表現是有差距，因此面對任何結果，最後還是需要針對胰臟 Beta 細胞做進一步的證實。

第六章 未來展望




FOXM1 基因至今在無論小鼠或是人體組織研究報導中，都展現出其在不同組織或不同研究時間點，扮演著不同的角色，是個功能複雜且重要的基因(如圖十七)。



圖十七、FOXM1 基因的多功能面向

資料來源：

Wierstra, I. (2013). The Transcription Factor FOXM1 (Forkhead box M1). *Advances in Cancer Research*, 97–398. doi:10.1016/b978-0-12-407173-5.00004-2



若未來仍欲採用周邊血及臍帶血繼續研究此基因與妊娠糖尿病的關係，有幾個方向值得去探討及驗證。首先，檢測懷孕前、中和產後期各別 FOXM1 基因的表達量，探討是否 FOXM1 基因的表達量會有先上升後下降的趨勢，並且在產後會回到產前水平。再者，因本研究已發現在產前 FOXM1 基因表達量在有無 GDM 中並無明顯差異，因此未來能將檢測時間改為第二孕期，來觀察在發展出 GDM 的關鍵時期，FOXM1 基因表達量在有無 GDM 的血液樣本中有無差異。接著，確認胰島素阻抗形成的機轉，因為單純的胰島素阻抗過高，在沒有其他調控機制失調的情況下，就可能直接導致妊娠糖尿病，因此胰島素阻抗的監測數值是在探討機轉上不可缺的層面。

最後，一個基因所執行的功能和特性大部分會由其所轉譯出的蛋白質來執行，若蛋白質功能異常，則會造成疾病。然而，一個基因 DNA 序列上的單核苷酸多態性(SNP)雖然有的不會改變胺基酸的序列，但仍會影響一個個體的對某些疾病的感受性。因此研究妊娠糖尿病患的 FOXM1 基因是否具有獨特的 SNP 位點特性也是值得研究的方向。

第六章 參考文獻



1. American Diabetes, A., 2. *Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018*. Diabetes Care, 2018. **41**(Suppl 1): p. S13-S27.
2. Haneda, M., et al., *Japanese Clinical Practice Guideline for Diabetes 2016*. J Diabetes Investig, 2018.
3. *International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 8th ed.; IDF: Brussels, Belgium, 2017*.
4. Nguyen, C.L., et al., *Prevalence of Gestational Diabetes Mellitus in Eastern and Southeastern Asia: A Systematic Review and Meta-Analysis*. J Diabetes Res, 2018. **2018**: p. 6536974.
5. Di Cianni, G., et al., *Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes*. Diabetes Metab Res Rev, 2003. **19**(4): p. 259-70.
6. Catalano, P.M., et al., *Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women*. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 1991. **165**(6): p. 1667-1672.
7. Phelps, R.L., B.E. Metzger, and N. Freinkel, *Carbohydrate metabolism in pregnancy: XVII. Diurnal profiles of plasma glucose, insulin, free fatty acids, triglycerides, cholesterol, and individual amino acids in late normal pregnancy*. American Journal of Obstetrics & Gynecology, 1981. **140**(7): p. 730-736.
8. JONATHAN A. PARSONS, T.C.B., AND ROBERT L. SORENSON *Adaptation of Islets of Langerhans to Pregnancy: Increased Islet Cell Proliferation and Insulin Secretion Correlates with the Onset of Placental Lactogen Secretion*. 2014.
9. EDMOND A. RYAN, M.J.O.S., AND JAY S. SKYLER, *Insulin Action During Pregnancy Studies with the Euglycemic Clamp Technique*. DIABETES, , APRIL 1985. **VOL. 34**.
10. Weir, G.C., et al., *Beta-cell adaptation and decompensation during the progression of diabetes*. Diabetes, 2001. **50 Suppl 1**: p. S154-9.
11. Prentki, M. and C.J. Nolan, *Islet beta cell failure in type 2 diabetes*. J Clin Invest, 2006. **116**(7): p. 1802-12.
12. Van Assche, F.A., L. Aerts, and F. De Prins, *A morphological study of the endocrine pancreas in human pregnancy*. Br J Obstet Gynaecol, 1978. **85**(11): p. 818-20.
13. Catalano, P.M., *Trying to understand gestational diabetes*. Diabet Med, 2014. **31**(3): p. 273-81.
14. Sivan, E. and G. Boden, *Free fatty acids, insulin resistance, and pregnancy*. Curr Diab Rep, 2003. **3**(4): p. 319-22.
15. Cai, S., et al., *Sleep Quality and Nocturnal Sleep Duration in Pregnancy and*

- Risk of Gestational Diabetes Mellitus*. Sleep, 2017. **40**(2).
16. Facco, F.L., et al., *Objectively measured short sleep duration and later sleep midpoint in pregnancy are associated with a higher risk of gestational diabetes*. Am J Obstet Gynecol, 2017. **217**(4): p. 447.e1-447.e13.
 17. Lao, T.T., Ho, L.-F., Chan, B. C. P., & Leung, W.-C., *Maternal Age and Prevalence of Gestational Diabetes Mellitus*. Diabetes Care, 2006. **29**(4), **948–949**.
 18. Levy, A., et al., *Family history of diabetes mellitus as an independent risk factor for macrosomia and cesarean delivery*. J Matern Fetal Neonatal Med, 2010. **23**(2): p. 148-52.
 19. Jenum, A.K., et al., *Impact of ethnicity on gestational diabetes identified with the WHO and the modified International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups criteria: a population-based cohort study*. Eur J Endocrinol, 2012. **166**(2): p. 317-24.
 20. Zhang, C., et al., *Adherence to healthy lifestyle and risk of gestational diabetes mellitus: prospective cohort study*. BMJ, 2014. **349**: p. g5450.
 21. Durnwald, C., *Gestational diabetes: Linking epidemiology, excessive gestational weight gain, adverse pregnancy outcomes, and future metabolic syndrome*. Semin Perinatol, 2015. **39**(4): p. 254-8.
 22. Gascho, C.L., et al., *Predictors of cesarean delivery in pregnant women with gestational diabetes mellitus*. Rev Bras Ginecol Obstet, 2017. **39**(2): p. 60-65.
 23. Scifres, C.M., et al., *Large-for-Gestational-Age Ultrasound Diagnosis and Risk for Cesarean Delivery in Women With Gestational Diabetes Mellitus*. Obstet Gynecol, 2015. **126**(5): p. 978-86.
 24. Ruth K Peters, S.L.K., Anny Xiang, Thomas A Buchanan, *Long-term diabetogenic effect of single pregnancy in women with previous gestational diabetes mellitus*. 1996. **1996**.
 25. Shostrom, D.C.V., et al., *History of Gestational Diabetes Mellitus in Relation to Cardiovascular Disease and Cardiovascular Risk Factors in US Women*. Front Endocrinol (Lausanne), 2017. **8**: p. 144.
 26. Vohr, B.R. and C.M. Boney, *Gestational diabetes: the forerunner for the development of maternal and childhood obesity and metabolic syndrome?* J Matern Fetal Neonatal Med, 2008. **21**(3): p. 149-57.
 27. Tam, W.H., et al., *In Utero Exposure to Maternal Hyperglycemia Increases Childhood Cardiometabolic Risk in Offspring*. Diabetes Care, 2017. **40**(5): p. 679-686.
 28. Petitt, D.J., et al., *Gestational diabetes mellitus and impaired glucose tolerance during pregnancy. Long-term effects on obesity and glucose tolerance in the offspring*. Diabetes, 1985. **34 Suppl 2**: p. 119-22.

29. Lee, S.C., et al., *Diabetes in Hong Kong Chinese: evidence for familial clustering and parental effects*. *Diabetes Care*, 2000. **23**(9): p. 1365-8.
30. ASSOCIATION, A.D., *Gestational Diabetes Mellitus*. *DIABETES CARE*, JANUARY 2003. **VOLUME 26**.
31. Ye, H., et al., *Premature expression of the winged helix transcription factor HFH-11B in regenerating mouse liver accelerates hepatocyte entry into S phase*. *Mol Cell Biol*, 1999. **19**(12): p. 8570-80.
32. Korver, W., et al., *The human TRIDENT/HFH-11/FKHL16 gene: structure, localization, and promoter characterization*. *Genomics*, 1997. **46**(3): p. 435-42.
33. Yao, K.M., et al., *Molecular analysis of a novel winged helix protein, WIN. Expression pattern, DNA binding property, and alternative splicing within the DNA binding domain*. *J Biol Chem*, 1997. **272**(32): p. 19827-36.
34. HONGGANG YE, T.F.K., 1 DAVID G. OVERDIER,1 UZMA SAMADANI,1 † KENNETH A. ROEBUCK,2 LORENA LIM,1 AND ROBERT H. COSTA1, *Hepatocyte Nuclear Factor 3/fork head Homolog 11 Is Expressed in Proliferating Epithelial and Mesenchymal Cells of Embryonic and Adult Tissues*. *MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY*, Mar. 1997,. **Vol. 17, No. 3**.
35. Teh, M.-T., et al., *FOXM1 is a downstream target of Gli1 in basal cell carcinomas*. *Cancer research*, 2002. **62**: p. 4773-80.
36. Wouter Korver*, J.R.a.H.C., *The winged-helix transcription factor Trident is expressed in cycling cells*. *Nucleic Acids Research*, 1997. **Vol. 25, No. 9**.
37. Korver, W., et al., *The winged-helix transcription factor Trident is expressed in actively dividing lymphocytes*. *Immunobiology*, 1997. **198**(1-3): p. 157-61.
38. Wierstra, I., *The transcription factor FOXM1 (Forkhead box M1): proliferation-specific expression, transcription factor function, target genes, mouse models, and normal biological roles*. *Adv Cancer Res*, 2013. **118**: p. 97-398.
39. Kalinichenko, V.V., et al., *Differential expression of forkhead box transcription factors following butylated hydroxytoluene lung injury*. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2001. **280**(4): p. L695-704.
40. Wang, X., et al., *Increased levels of forkhead box M1B transcription factor in transgenic mouse hepatocytes prevent age-related proliferation defects in regenerating liver*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. **98**(20): p. 11468-73.
41. Perou, C.M., et al., *Molecular portraits of human breast tumours*. *Nature*, 2000. **406**(6797): p. 747-752.
42. Garber, M.E., et al., *Diversity of gene expression in adenocarcinoma of the lung*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. **98**(24): p. 13784-9.
43. Okabe, H., et al., *Genome-wide analysis of gene expression in human*

- hepatocellular carcinomas using cDNA microarray: identification of genes involved in viral carcinogenesis and tumor progression.* *Cancer Res*, 2001. **61**(5): p. 2129-37.
44. Sorlie, T., et al., *Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications.* *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. **98**(19): p. 10869-74.
45. Wierstra, I., & Alves, J. , *FOXM1, a typical proliferation-associated transcription factor.* *Biological Chemistry*, 2007. **388**(12).
doi:10.1515/bc.2007.159
46. Krupczak-Hollis, K., et al., *The mouse Forkhead Box m1 transcription factor is essential for hepatoblast mitosis and development of intrahepatic bile ducts and vessels during liver morphogenesis.* *Dev Biol*, 2004. **276**(1): p. 74-88.
47. Kim, I.M., et al., *The forkhead box m1 transcription factor is essential for embryonic development of pulmonary vasculature.* *J Biol Chem*, 2005. **280**(23): p. 22278-86.
48. Ramakrishna, S., et al., *Myocardium defects and ventricular hypoplasia in mice homozygous null for the Forkhead Box M1 transcription factor.* *Dev Dyn*, 2007. **236**(4): p. 1000-13.
49. Gregg, B.E., et al., *Formation of a human beta-cell population within pancreatic islets is set early in life.* *J Clin Endocrinol Metab*, 2012. **97**(9): p. 3197-206.
50. Bonner-Weir, S., *Life and Death of the Pancreatic β Cells.* *TEM*, 2000. **Vol. 11, No. 9,**
51. Zhang, H., et al., *Gestational diabetes mellitus resulting from impaired beta-cell compensation in the absence of FoxM1, a novel downstream effector of placental lactogen.* *Diabetes*, 2010. **59**(1): p. 143-52.
52. Zhang, H., et al., *The FoxM1 transcription factor is required to maintain pancreatic beta-cell mass.* *Mol Endocrinol*, 2006. **20**(8): p. 1853-66.
53. Reers, C., et al., *Impaired islet turnover in human donor pancreata with aging.* *Eur J Endocrinol*, 2009. **160**(2): p. 185-91.
54. Ackermann Misfeldt, A., R.H. Costa, and M. Gannon, *Beta-cell proliferation, but not neogenesis, following 60% partial pancreatectomy is impaired in the absence of FoxM1.* *Diabetes*, 2008. **57**(11): p. 3069-77.
55. Davis, D.B., et al., *FoxM1 is up-regulated by obesity and stimulates beta-cell proliferation.* *Mol Endocrinol*, 2010. **24**(9): p. 1822-34.
56. Gasim, T., *Gestational Diabetes Mellitus: Maternal and Perinatal Outcomes in 220 Saudi Women.* *Oman Medical Journal*, 2012. **Vol. 27, No. 2: 140-144.**

附錄一、受試者同意書

病歷號：
姓名：
生日：西元 年 月 日

臨床試驗/研究受試者說明暨同意書

研究倫理委員會案號：201806017RINC

請詳細閱讀內容，待主持人或其授權人員向您說明後，再簽署同意書

第 1 頁

計畫名稱 中文：FOXMI 基因在妊娠糖尿病患者週邊血及臍帶血中之表現 英文：The expression of FOXMI in peripheral blood and umbilical cord blood from patient with GDM.	
試驗機構：國立台灣大學醫學院附設醫院婦產部	委託單位/藥廠：無 研究經費來源：院內計畫
試驗主持人：林芯仔 協同主持人：李建南	職稱：主治醫師 職稱：主治醫師
聯絡人：陳玳婷 上班時間聯絡電話：0918703869	
受試者姓名：	病歷號碼：
您被邀請參與此臨床試驗/研究，這份表格提供您本試驗/研究之相關資訊，試驗主持人或其授權人員將會為您說明試驗/研究內容並回答您的任何疑問，在您的問題尚未獲得滿意的答覆之前，請不要簽署此同意書。您不須立即決定是否參加本試驗/研究，請您經過慎重考慮後方予簽名。您須簽署同意書後才能參與本試驗/研究。如果您願意參與本試驗/研究，此文件將視為您的同意紀錄。即使在您同意後，您仍然可以隨時退出本試驗/研究而不需任何理由。	
(一)試驗/研究目的： FOXMI 基因在動物試驗中顯示其參與了 beta 細胞的擴張，使胰島素分泌量上升，進而達到血糖的恆定。因此本研究主要目的就是檢測妊娠糖尿病孕婦週邊血中 FOXMI 基因的表達量，來探討該基因與妊娠糖尿病之間的關係。第二個目的是檢測妊娠糖尿病孕婦的胎兒臍帶血中 FOXMI 基因的表達，來探討在高糖環境下發育的孩子是否透過 FOXMI 基因來調節體內血糖。	
(二)研究背景或藥品/醫療技術/醫療器材現況： 1. 本品/技術資料：本研究不涉及藥品或醫療技術/器材。 2. 本品上市狀況：本研究不涉及藥品或醫療技術/器材。	
(三)試驗/研究之納入與排除條件： 執行本研究計畫的醫師或相關研究人員將會與您討論有關參加本研究的必要條件。請您配合必須誠實告知我們您過去的健康情形，若您有不符合參加本研究的情況，將不能參加本研究計畫。 1. 納入條件(參加本試驗/研究的條件)：20 歲以上(含)到五十歲以下(含)孕婦於妊娠 24-28 週，以單階段法直接執行 75 公克兩小時口服葡萄糖耐受測試。 實驗組：經篩檢後，判定患有妊娠糖尿病之孕婦及其胎兒 控制組：經篩檢後，判定未患有妊娠糖尿病之孕婦及其胎兒 2. 排除條件(若您有下列任一情況，您將無法參加本試驗/研究)： 1. 孕前已診斷為糖尿病之個案。 2. 任何年齡層之男性個案。	
(四)本試驗/研究方法及相關程序： 本試驗將納入 60 對罹患妊娠糖尿病及無妊娠糖尿病的成年孕婦及其胎兒，共 240 名受試對象。	

版本/日期：2018/07/03

NTUHREC_Version：AF-046/08.1

西元 2017 年 06 月 19 日病歷委員會修正通過 MR19-304
西元 2017 年 05 月 31 日品質暨病人安全委員會審核通過

文件編號 01010-4-601566 版次 04

8

病歷號：
姓名：
生日：西元 年 月 日

國立臺灣大學醫學院附設醫院
National Taiwan University Hospital

臨床試驗/研究受試者說明暨同意書

研究倫理委員會案號：201806017RINC

請詳細閱讀內容，待主持人或其授權人員向您說明後，再簽署同意書

第 2 頁

每個個案將抽取週邊血10毫升以及其胎兒臍帶血10毫升。所收集的週邊血將進行HPL、C-peptide、HOMA-IR數值以及FOXMI基因表達量的檢測；臍帶血則會檢驗Glucose、C-peptide、FOXMI基因表達量。周邊血皆將於孕婦產前24-28週空腹時採血收集，而臍帶血則皆於孕婦產後採血收集。

(五)可能發生之風險及其發生率與處理方法：

1. 與試驗藥物/醫療器材/醫療技術相關的風險（本試驗使用藥物/器材/醫療技術的副作用）：無。
2. 與試驗/研究過程相關的風險：在抽取週邊靜脈血的過程中，疼痛感受度因人而異，可能有短暫的疼痛，有些個案會出現局部瘀青的現象，透過加壓下針處數分鐘後即可緩解症狀。

(六)其他替代療法及說明：

本試驗不涉入任何治療的方式。

(七)試驗/研究預期效益：

我國目前對於妊娠糖尿病的致病機制尚未釐清，透過探討FOXMI基因與妊娠糖尿病的相關性及其可能扮演的角色，以期未來可利用基因調控來達到該疾病的預防或是治療。

(八)試驗/研究進行中受試者之禁忌、限制與應配合之事項：

無。

(九)受試者個人資料之保密：

台大醫院將依法把任何可辨識您的身分之記錄與您的個人隱私資料視為機密來處理，不會公開。研究人員將以一個研究代碼代表您的身分，此代碼不會顯示您的姓名、國民身分證統一編號、住址等可識別資料。如果發表試驗/研究結果，您的身分仍將保密。您亦瞭解若簽署同意書即同意您的原始醫療紀錄可直接受監測者、稽核者、研究倫理委員會及主管機關檢閱，以確保臨床試驗/研究過程與數據符合相關法律及法規要求，上述人員並承諾絕不違反您的身分之機密性。除了上述機構依法有權檢視外，我們會小心維護您的隱私。

(十)試驗/研究之退出與中止：

您可自由決定是否參加本試驗/研究；試驗/研究過程中也可隨時撤銷或中止同意，退出試驗/研究，不需任何理由，且不會引起任何不愉快或影響其日後醫師對您的醫療照顧。為了您的安全，當發生以下情形時，您必須退出試驗/研究：

當試驗/研究執行中有重要的新資訊(指和您的權益相關或是影響您繼續參與意願)，會通知您並進一步說明，請您重新思考是否繼續參加，您可自由決定，不會引起任何不愉快或影響其日後醫師對您的醫療照顧。

計畫主持人亦可能於必要時中止整個試驗/研究之進行。

當您退出本試驗/研究或主持人判斷您不適合繼續參與本試驗/研究時，在退出前已得到的資料將被保留，不會移除。在退出後您可選擇如何處理您先前提提供的檢體，與決定是否同意試驗主持人繼續收集您的資料。

1. 對我先前所提供的檢體

我同意繼續授權本試驗/研究使用於本試驗疾病相關的研究。逾越原書面同意使用範圍

版本/日期：2018/07/03

NTUHREC_Version：AF-046/08.1

西元2017年06月19日病歷委員會修正通過 MR19-304
西元2017年05月31日品質暨病人安全委員會審核通過

文件編號 01010-4-601566 版次 04



病歷號：
姓名：
生日：西元 年 月 日

國立臺灣大學醫學院附設醫院
National Taiwan University Hospital

臨床試驗/研究受試者說明暨同意書

研究倫理委員會案號：201806017RINC

請詳細閱讀內容，待主持人或其授權人員向您說明後，再簽署同意書

第 3 頁

時，需再次經過我同意。

不同意繼續授權本試驗/研究使用，但為確保已完成檢查之準確性，同意試驗/研究相關檢體可由實驗室進行再次確認後銷毀。

不同意繼續授權本試驗/研究使用，請自我退出日起銷毀我之前的本試驗/研究相關檢體。

2. 退出後讓試驗主持人繼續收集我的資料，例如經由我的病歷記載取得後續醫療過程、實驗室檢查結果。繼續收集資料期間，仍會維護您的隱私和個人資料的機密性。

同意收集。

不同意本試驗/研究繼續收集或檢視我的資料，但可經由公共資料庫查詢之紀錄不在此限。

(十一) 損害補償與保險：

試驗/研究一定有風險，為確保因為參與試驗/研究發生不良反應造成您的損害時所可能獲得之保障，請您務必詳閱本項說明內容：

1. 如依本研究所訂臨床試驗/研究計畫，因而發生不良反應或損害，本醫院願意提供專業醫療照顧及醫療諮詢。您不必負擔治療不良反應或損害之必要醫療費用。

2. 若您不願意接受這樣的風險，請勿參加試驗/研究。

3. 您不會因為簽署本同意書，而喪失在法律上的任何權利。

(十二) 受試者之檢體(含其衍生物)、個人資料之保存、使用與再利用

1. 檢體及剩餘檢體之保存與使用

(1) 檢體(含其衍生物)之保存與使用

為研究所需，我們所蒐集您的檢體，將依本研究計畫使用，檢體將保存於台大醫院婦產部 18 樓實驗室，直至試驗結束，我們將依法銷毀。為了保護您的個人隱私，我們將以一個試驗/研究編號來代替您的名字及相關個人資料，以確認您的檢體及與相關資料受到完整保密。如果您對檢體的使用有疑慮，或您有任何想要銷毀檢體的需求，請立即與我們聯絡(聯絡人：陳玚婷 電話：09187038639；聯絡單位：台大醫院婦產部 電話：09187038639 地址：台北市中正區中山南路 8 號)，我們即會將您的檢體銷毀。您也可以聯繫本院研究倫理委員會(電話：(02)2312-3456 轉 63155)，以協助您解決檢體在研究使用上的任何爭議。

(2) 剩餘檢體(含其衍生物)之保存與再利用

本試驗/研究不保存剩餘檢體，您的剩餘檢體將於研究結束後銷毀。

2. 個人資料

在試驗/研究期間，依據計畫類型與您所授權的內容，我們將會蒐集與您有關的病歷資料、醫療紀錄等資料與資訊，並以一個編號來代替您的名字及相關個人資料。前述資料若為紙本型式，將會與本同意書分開存放於研究機構之上鎖櫃中；若為電子方式儲存或建檔以供統計與分析之用，將會存放於設有密碼與適當防毒軟體之專屬電腦內。這些研究資料與資訊將會保存10年。

(十三) 受試者權益：

1. 如果您在試驗/研究過程中對試驗/研究工作性質產生疑問，對身為患者之權利有意見或懷疑因參與研究而受害時，可與研究倫理委員會聯絡請求諮詢，電話號碼為：

版本/日期：2018/07/03

NTUHREC_Version：AF-046/08.1

西元 2017 年 06 月 19 日病歷委員會修正通過 MR19-304
西元 2017 年 05 月 31 日品質暨病人安全委員會審核通過

文件編號 01010-4-601566 版次 04

8

病歷號：
姓名：
生日：西元 年 月 日

國立臺灣大學醫學院附設醫院
National Taiwan University Hospital

臨床試驗/研究受試者說明暨同意書

研究倫理委員會案號：201806017RINC

請詳細閱讀內容，待主持人或其授權人員向您說明後，再簽署同意書

第4頁

(02)2312-3456轉63155。

- 試驗/研究過程中，與您的健康或是疾病有關，可能影響您繼續接受臨床試驗/研究意願的任何重大發現，都將即時提供給您。如果您決定退出，醫師會安排您繼續接受醫療照護。如果您決定繼續參加試驗/研究，可能需要簽署一份更新版的同意書。
- 如果您現在或於試驗/研究期間有任何問題或狀況，請不必客氣，可與在台大醫院婦產部的林芯仔醫師聯絡（24小時聯繫電話：_0972651401）。
- 本同意書一式2份，試驗主持人或其授權人員已將1份已簽名的同意書交給您，並已完整說明本研究之性質與目的。_林芯仔/李建南_醫師已回答您有關研究的問題。
- 參加試驗研究計畫之補助：本研究未提供補助。
- 若試驗結束後 2 年內，發現有非預期且直接影響您的安全疑慮，亦將通知您。

(十四) 本研究預期可能衍生之商業利益：

本研究預期不會衍生專利權或其他商業利益。

(十五) 簽名：

- 試驗主持人、或協同主持人或其授權人員已詳細解釋有關本研究計畫中上述研究方法的性質與目的，及可能產生的危險與利益。

試驗主持人/協同主持人簽名：_____

日期：_____年____月____日

在取得同意過程中其他參與解說及討論之研究人員簽名：_____

日期：_____年____月____日

- 經由說明後本人已詳細瞭解上述研究方法及可能產生的危險與利益，有關本試驗/研究計畫的疑問，亦獲得詳細解釋。本人同意接受並自願參與本研究，且將持有已簽名的同意書。

受試者簽名：_____ 日期：_____年____月____日

出生年月日：_____年____月____日 電話：_____

國民身分證統一編號：_____ 性別：_____

通訊地址：_____

法定代理人/有同意權之人簽名：_____ 日期：_____年____月____日

與受試者關係（請圈選）：配偶、父、母、兒、女、其他：_____

出生年月日：_____年____月____日 電話：_____

國民身分證統一編號：_____

通訊地址：_____

*適用醫藥法第79條第1項但書或人體研究法第12條第1項但書情形者，其同意權之行使分別依醫藥法第79條第2項、人體試驗管理辦法第5條或人體研究法第12條第3、4項規定辦理；

版本/日期：2018/07/03

NTUHREC_Version：AF-046/08.1

西元2017年06月19日病歷委員會修正通過 MR19-304
西元2017年05月31日品質暨病人安全委員會審核通過

文件編號 01010-4-601566 版次 04

8

病歷號：
姓名：
生日：西元 年 月 日

國立臺灣大學醫學院附設醫院
National Taiwan University Hospital

臨床試驗/研究受試者說明暨同意書

研究倫理委員會案號：201806017RINC

請詳細閱讀內容，待主持人或其授權人員向您說明後，再簽署同意書 第 5 頁

- *受試者為無行為能力者(未滿七歲之未成年人或受監護宣告之人)，由法定代理人簽名；受監護宣告之人，由監護人擔任其法定代理人。
- *受試者為限制行為能力者(滿七歲以上之未成年人或因精神障礙、其他心智缺陷，致其為意思表示、受意思表示、辨識其意思表示效果之能力，顯有不足，而受法院之輔助宣告者)，應得其本人及法定代理人或輔助人之同意。
- *受試者雖非無行為能力或限制行為能力者，但因意識混亂或有精神與智能障礙，而無法進行有效溝通和判斷時，由有同意權之人簽名。有同意權人順序如下：
1. 屬新藥、新醫療器材、新醫療技術之人體試驗(人體試驗管理辦法第 5 條)：
 - (1) 配偶。(2) 父母。(3) 同居之成年子女。(4) 與受試者同居之祖父母。(5) 與受試者同居之兄弟姊妹。(6) 最近一年有同居事實之其他親屬。
 2. 屬人體研究(人體研究法第 12 條)：
 - (1) 配偶。(2) 成年子女。(3) 父母。(4) 兄弟姊妹。(5) 祖父母。
- 依前項關係人所為之書面同意，其書面同意，得以一人行之；關係人意思表示不一致時，依前項各款先後定其順序。前項同一順序之人，以親等近者為先，親等同者，以同居親屬為先，無同居親屬者，以年長者為先。

見證人簽名：_____ 日期：_____年____月____日

- *受試者、法定代理人或有同意權之人皆無法閱讀時，應由見證人在場參與所有有關受試者同意之討論。並確定受試者、法定代理人或有同意權之人之同意完全出於其自由意願後，應於受試者同意書簽名並載明日期。試驗/研究相關人員不得為見證人。

版本/日期：2018/07/03

NTUHREC_Version：AF-046/08.1

西元 2017 年 06 月 19 日 病歷委員會修正通過 MR19-304
西元 2017 年 05 月 31 日 品質暨病人安全委員會審核通過

文件編號	01010-4-601566	版次	04
------	----------------	----	----

