

# 최종보고서

## [기관고유연구사업]

과제고유번호	1310880	연구분야 (코드)	B-1	지원 프로그램	창의 (일반연구)과제	공개가능여부 (공개, 비공개)	공개
연구사업명	국립암센터 기관고유연구사업						
연구과제명	암 치료를 위한 Oct4 기능 조절 연구						
과제책임자	성명	장현철	소속	분자종양학연구과	직위	장현철	
세부과제	구분	과제명			과제책임자		
	(1세부)				성명	소속(직위)	전공
	(2세부)						
	(3세부)						
총연구기간	2013년 06월~ 2015 년 12월 (총 2년 7개월)	해당단계 참여 연구원 수	총: 8 명 내부: 1 명 외부: 7 명	해당단계 연구개발비	연구비: 120,000 민간:       천원 계:120,000천원		
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 8 명 내부: 1 명 외부: 7 명		총연구개발비	연구비: 320,000 민간:       천원 계:320,000천원	
연구기간 및 연구비 (단위:천원)	구분	연구기간	계	국립암센터	기업부담금		
	계	'13.06~'15.12		320,000	소계	현금	현물
	제1차	'13.06~'13.12		100,000			
	제2차	'14.01~14.12		100,000			
	제3차	'15.01~15.12		120,000			
참여기업	참여기업명 :						
국제공동연구	상대국명:			상대국 연구기관명:			
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:			

Oct4가 이질적인 암세포주에서 항암제 내성이 강한 암세포군 생존, 성장에 필수적임을 확인  
 Oct4가 물질대사를 조절하여 줄기세포의 암화과정에 관여함을 확인 (Stem Cells지 발표)  
 Oct4의 기능을 조절할 수 있는 핵심적인 번역후 조절 (PTM)을 3건 이상 발굴  
 핵심 위치 1건에 대한 기전 연구 완료 (kinase, phosphatase 규명, 역할 규명)(eLIFE지 발표)

2016 년    3 월    9 일

과제책임자 : 장 현 철 (인)

국립암센터원장 귀하

< 국문 요약문 >

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p>&lt;최종목표&gt; Oct4 기능 조절을 통한 암 치료 가능성 제시 1차년도 : Oct4가 암 세포 성장, 사멸, 항암제 내성에 미치는 영향 규명 2차년도 : 암 발생 과정에서 Oct4의 역할 연구 3차년도 : Oct4의 기능을 분자수준에서 제어하는 기전 연구</p>																
<p>연구개발성과</p>	<p>&lt;정량적 성과<sup>1)</sup>&gt;</p> <table border="1" data-bbox="464 620 1399 759"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>달성치/목표치<sup>1)</sup></th> <th>달성도(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SCI 논문 편수</td> <td>1/1</td> <td>100 %</td> </tr> <tr> <td>IF 합</td> <td>6.523/5</td> <td>100 %</td> </tr> <tr> <td>기타 성과</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>국내학술대회 발표 : 5회 (구두발표 4, 포스터 발표 1) &lt;정성적 성과&gt; -주요연구성과를 개조식으로 간단히 작성(5줄 이내) · Oct4가 이질적인 암세포주에서 항암제 내성이 강한 암세포군 생존, 성장에 필수적임을 확인 · Oct4가 물질대사를 조절하여 줄기세포의 암화과정에 관여함을 확인 (Stem Cells지 발표) · Oct4의 기능을 조절할 수 있는 핵심적인 번역후 조절 (PTM)을 3건 이상 발굴 · 핵심 위치 1건에 대한 기전 연구 완료 (kinase, phosphatase 규명, 역할 규명, eLIFE지 발표))</p>					구분	달성치/목표치 <sup>1)</sup>	달성도(%)	SCI 논문 편수	1/1	100 %	IF 합	6.523/5	100 %	기타 성과		
구분	달성치/목표치 <sup>1)</sup>	달성도(%)															
SCI 논문 편수	1/1	100 %															
IF 합	6.523/5	100 %															
기타 성과																	
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>· 실질적인 암 사망자 수를 낮추기 위해서는 암 재발을 막는 연구가 필수적임 · 본 연구를 통해 Oct4가 재발능력이 있는 암세포의 생존, 성장에 필수적임을 확인, 이를 통해 줄기세포핵심인자들을 새로운 항암치료제 개발 타겟으로 제시 · Oct4가 직접적으로 물질대사를 조절하여 줄기세포의 암화과정에 관여한다는 본 연구는 향후 물질대사 측면에서 암 치료제를 개발하려는 연구에 많은 영향을 미칠 것으로 예상함 · Oct4의 기능을 조절할 수 있는 핵심적인 PTM에 관한 연구는 Oct4가 중요한 역할을 하는 암에서 실질적으로 Oct4를 타겟할 수 있는 방법을 밝혀, 새로운 항암 타겟 제시</p>																
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>암줄기세포</p>	<p>항암제 내성</p>	<p>Oct4</p>	<p>번역후 조절</p>	<p>줄기세포성</p>												

< 영문 요약문 >

< SUMMARY >

<p>Purpose&amp; Contents</p>	<p>&lt;Final Goal&gt;</p> <p>Presentation of cancer treatment possibilities by regulation of Oct4 function</p> <p>1<sup>st</sup> year : The effect of Oct4 on cancer cell growth, death, and drug resistance</p> <p>2<sup>nd</sup> year : The role of Oct4 in cancer initiation</p> <p>3<sup>rd</sup> year : The molecular mechanism controlling Oct4 function</p>													
<p>Results</p>	<p>&lt;Quantitative measure&gt;</p> <table border="1" data-bbox="419 618 1353 757"> <thead> <tr> <th></th> <th>results/goal</th> <th>Achievement (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SCI paper</td> <td>1/1</td> <td>100 %</td> </tr> <tr> <td>IF etc</td> <td>6.523/5</td> <td>100 %</td> </tr> </tbody> </table> <p>domestic conference presentation: 5 (4 oral, 1 poster)</p> <p>&lt;Qualitative measure&gt;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>· We confirmed that Oct4 is essential for survival and growth of drug-resistant cancer cell population</li> <li>· Oct4 involved in tumorigenesis of stem cells by regulation of metabolism (Published in Stem Cells)</li> <li>· We discovered more than 3 PTMs, which critically regulate Oct4 function.</li> <li>· We completed mechanism study about 1 PTM. (Physiological role, kinase and phosphatase were identified, Published in eLIFE)</li> </ul>						results/goal	Achievement (%)	SCI paper	1/1	100 %	IF etc	6.523/5	100 %
	results/goal	Achievement (%)												
SCI paper	1/1	100 %												
IF etc	6.523/5	100 %												
<p>Expected Contribution</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Research on the prevention of cancer recurrence is essential to reduce number of cancer deaths.</li> <li>· In this study, we determined that Oct4 is essential for survival and proliferation of the cells with potential of recurrence ; Thus, we suggested core stem cell factors as potent target for anti-cancer drug development</li> <li>· Our results showing Oct4 directly regulates metabolism, is expected to have a significant impact on future research targeting cancer metabolism.</li> <li>· Research on core PTMs regulating Oct4 function will provide novel way to therapeutically target Oct4</li> </ul>													
<p>Keywords</p>	<p>Cancer cell</p>	<p>stem drug resistance</p>	<p>Oct4</p>	<p>Posttranslational modification</p>	<p>stemness</p>									

## < 목 차 >

1. 연구개발과제의개요 .....	5
2. 국내외 기술개발 현황 .....	12
3. 연구수행 내용 및 결과 .....	13
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	33
5. 연구결과의 활용계획 등 .....	34
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	35
7. 연구개발과제의 대표적 연구실적 .....	38
8. 참여연구원 현황 .....	39
9. 기타사항 .....	39
10. 참고문헌 .....	39

<별첨> 자체평가의견서

# 1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적 : < Oct4 기능을 조절하여 재발에 관여하는 암세포를 죽일 수 있는 방법 연구 >

- 암 사망자수 감소를 위해서는 암의 재발을 막는 연구가 필수적임.
- 암 재발에 관여하는 세포는 줄기세포성을 띄고 있는 것으로 생각되고 있음
- 줄기세포핵심인자인 Oct4가 암 재발에 관여하는 항암제 내성 세포의 생존, 증식에 필수적인 역할을 하는 지 여부를 규명
- Oct4가 줄기세포의 암화과정에 미치는 영향을 확인
- 실질적으로 Oct4의 기능을 조절할 수 있는 PTM (postranslational modification)을 규명

1-2. 연구개발의 필요성

(1) 기존 항암 치료의 한계-항암제 내성과 재발

- 종양 내에 항암제 내성이 큰 암세포 존재 (Intrinsic resistance)
  - 종양 내에 특정 항암제에 내성이 있는 세포가 존재하여, 항암치료 과정에서 선택적으로 살아남아 항암제 내성을 띄게 됨 (그림 1; Kohno et al. Eur J Cancer. 2005).

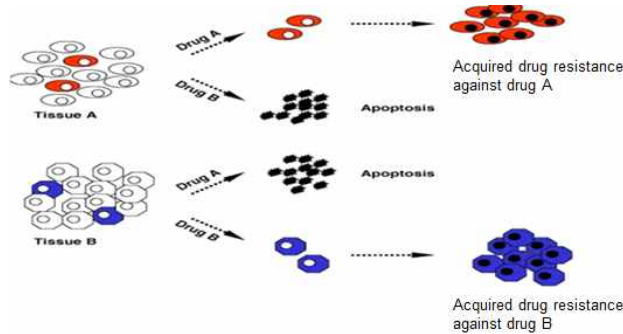


그림 1. 항암치료 과정에서 특정 항암제에 내성이 있는 세포가 살아남아 번식

○ 항암치료 과정에서 항암제 내성 획득 (Acquired resistance)

- 항암치료과정에서 약물내성, 세포사멸 관련 유전자가 발현되어 다중약물내성 (MDR)을 획득 (그림 2; Kohno et al. Eur J Cancer. 2005).

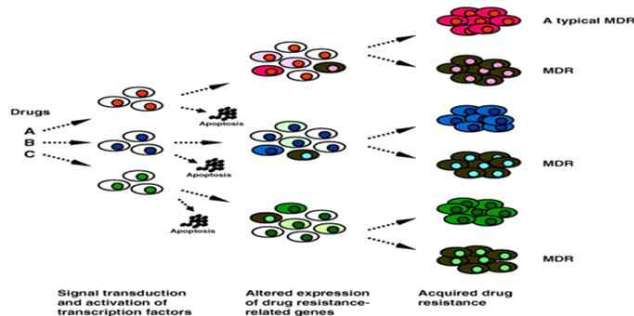


그림 2. 항암 치료과정에서 약물 내성, 세포사멸 내성 관련 유전자가 발현되어 다중약물내성 획득

(2) 암세포의 항암 치료 내성 획득 분자기전

○ 약물대사 이상/ Drug target의 유전적 다형성, 변이 / 손상 DNA 복구 기전의 활성화 / 세포 사멸의 억제 등의 여러 요인들이 암세포의 항암치료 내성에 관여하는 것으로 알려져 있고, 현재까지 세계적으로 많은 연구가 진행되고 있음.

○ **배아줄기세포 특이적 인자 발현의 증가**

- 항암 치료 내성 획득과 배아줄기세포 특이적 인자 발현의 상관성 : 항암 치료과정에서 살아남는 세포들에는 배아줄기세포 특징적 인자들의 발현이 증가되어 있음 (그림 3; Modified from Noh et al. J Clin Invest. 2012).

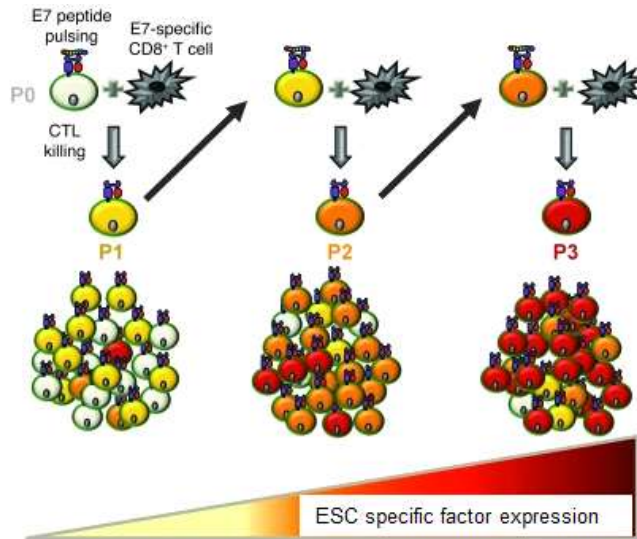


그림 3. Immune selection이 진행됨에 따라 암세포의 줄기세포-유사 특징이 증가함

- 항암 치료 내성 획득과 배아줄기세포 특이적 인자 발현의 상관성에 대해서 단편적인 연구결과들은 많으나 (Pubmed 검색결과 150여편의 논문) 과학계 전반에서 수긍할 수 있을만한 최종 합의는 이루어지지 않았음.
- 배아줄기세포/ 암줄기세포는 항암 화학치료제들에 대해 더 큰 저항력을 가짐 (그림 4; Modified from Zhou et al. Nat Rev Drug Discov. 2009).

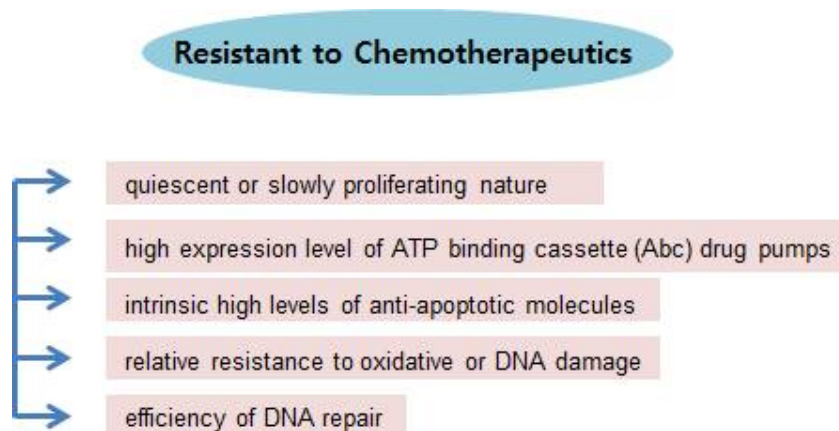


그림4. 암줄기세포가 항암 화학치료제들에 저항력을 보이는 기전

(3) 배아줄기세포 핵심 인자 Oct4

○ 배아줄기세포 핵심인자 Oct4 (그림 5).

- Oct4는 Pou5f1 유전자에 의해 발현되는 전사인자로 정상의 경우 생식 계열과 초기 배아발생과정에서만 발현됨.
- 배아줄기세포에서 Oct4가 없으면 전분화능이 사라지고, Oct4를 유지시켜주면 줄기세포 분화조건에서도 전분화능이 유지되는 등 줄기세포 핵심인자임.
- Yamanaka 교수가 처음 유도만능줄기세포를 제작했을 때 사용했던 4가지 유전자 중 하나로, 그 후 개발된 여러 변형된 유도만능줄기세포 제작 방법들에서도 빼놓을 수 없는 핵심인자임.

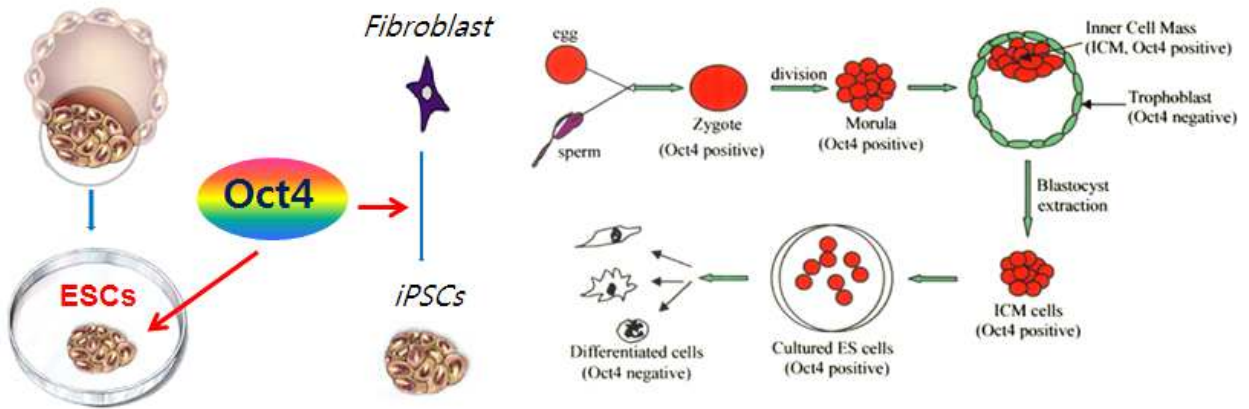


그림 5. 전분화능 핵심 전사인자 Oct4의 역할과 발생과정에서 발현패턴 변화

○ 배아줄기세포 핵심인자들의 네트워크

배아줄기세포에서는 Oct4, Sox2, Nanog이 가장 핵심적인 전사인자로 전분화능을 조절하고, TFCP2L1, KLF4, TBX2, KLF2 등이 추가로 중요한 역할을 함.

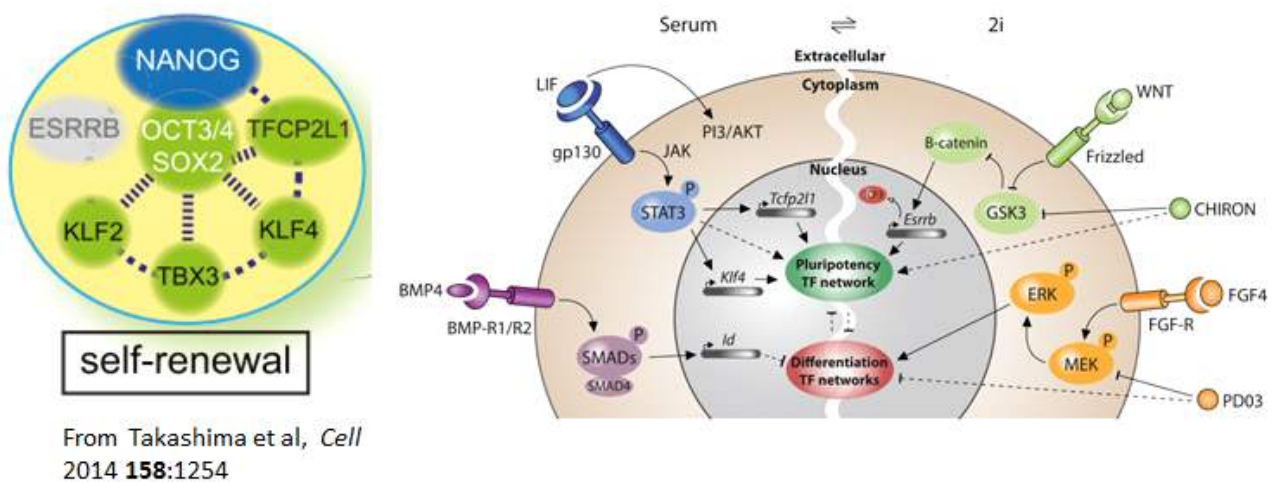


그림 6. 배아줄기세포 핵심 전사인자 네트워크

(4) Oct4와 암과의 관계

- Oct4와 Cancer를 주제로 현재 400여편의 SCI급 논문이 Pubmed에서 검색됨.
- Oct4는 위암, 대장암, 폐암, 간암, 전립선암, 갑상선암, 유방암, 자궁경부암, 난소암 등 대부분의 암에서 cancer malignancy, 항암제 내성과의 관계가 보고됨.

○ Oct4와 유방암과의 관계

- 정상유방세포에 Oct4를 과발현하면 암줄기세포가 만들어짐 (그림 7; Beltran et al. Breast Cancer Research 2011)

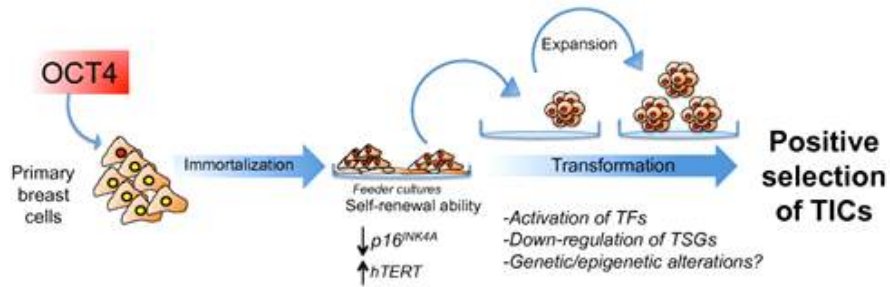
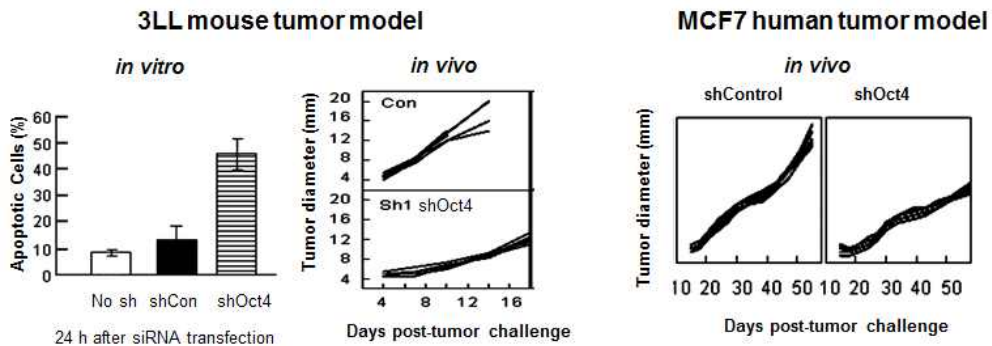


그림 7. 유방암 모델에서 Oct4 과발현으로 tumor-initiating cell이 만들어짐

- Oct4 발현이 높은 암세포에서 Oct4 발현을 억제하면 암성장이 억제됨 (그림 8).

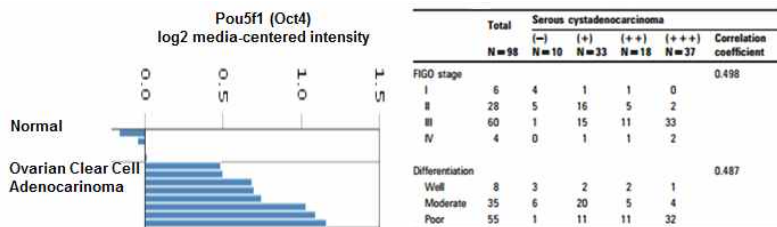


Hu et al. Cancer Res. 2008

그림 8. 생쥐에 Oct4 발현이 높은 생쥐 암세포 혹은 인간 암세포를 넣어 종양을 발생시킨 후 siRNA로 Oct4 발현을 낮추면 종양크기가 줄어들

○ Oct4와 난소암과의 관계

- 난소암 환자조직에서 정상조직과 종양, 종양들 중에서도 초기암과 후기암을 비교했을 때 밀접한 양의 상관관계가 있음 (그림 9).



Hendrix et al. Cancer Res. 2006

Zhang et al. J Clin Pathol. 2010

그림 9. 정상 및 난소선암에서 Oct4의 발현 정도 및 암 발달 단계와 Oct4 발현 정도간의 상관관계



- 항암제 (Cisplatin) 내성이 높은 난소암 세포들에서 Oct4 발현 높음 (그림 10).

### Ovarian Cancer; Cisplatin resistance

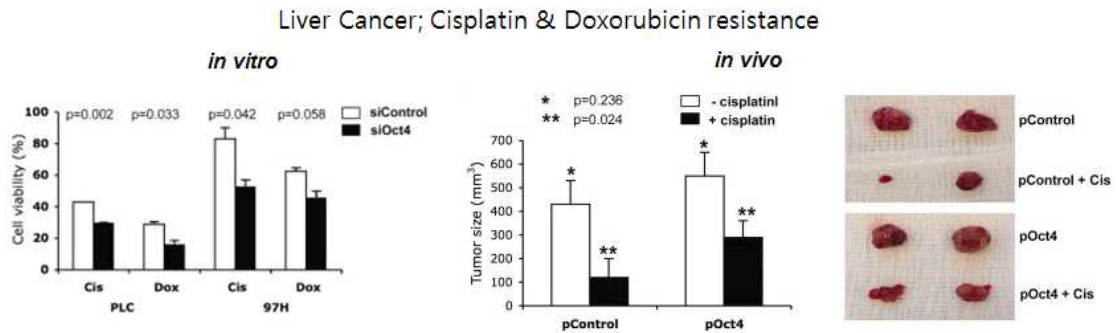
Genes	Cell line model		Tissue model	
	IGROV1 (sensitive)	IGROV1_CP (resistant)	12628 (chemo-sensitive tissue)	12344 (chemo-resistant tissue)
Pou5f1	0	26	1	50

Cheng et al. Gynecol Oncol. 2010

그림 10. Cisplatin 내성이 높은 세포주 혹은 환자조직에서 Oct4 발현이 높음

### ○ Oct4와 간암과의 관계

- Oct4 발현이 높은 암세포에서 Oct4 발현을 억제하면 항암제 내성이 감소함 (그림 11).



Wang et al. Hepatology. 2010

그림 11. HCC (hepatocellular carcinoma)에서 Oct4 증감이 항암제 내성 증감 초래

### (5) 번역후변형 (PTM; posttranslational modification)에 의한 Oct4 전사활성 조절

#### ○ 항암 치료제 개발을 위한 Oct4 기능 조절 연구.

- Oct4를 번역(translation)전 수준에서 조절하는 것은 어려움 (siRNA를 이용 혹은 전사단계를 조절하는 화학적 저해제는 현재까지는 임상에 적용하기에는 어려움).

#### • Oct4의 기능이 PTM에 의해 조절될 수 있음

- 본인은 전분화능 핵심인자 Oct4의 228번째 아미노산에 당화 (O-GlcNAcylation)가 일어나고, 당화가 일어나지 못하는 Oct4는 기능이 현저히 저하됨을 밝힘 (그림 12; Jang et al. Cell Stem Cell 2012).

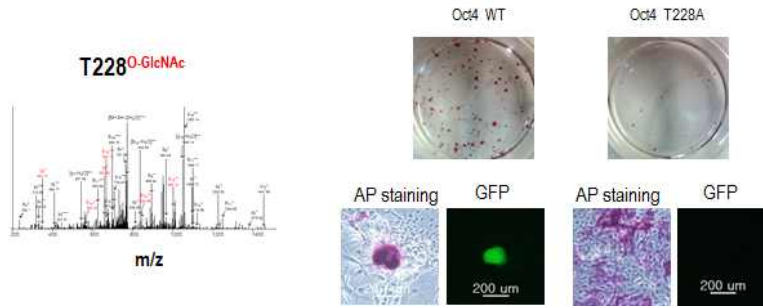


그림 12. Oct4의 T228의 O-GlcNAc PTM을 막으면 배아줄기세포 자기 재생능력 및 체세포의 역분화 효율이 현저히 감소함

- 당화에 의한 Oct4기능 조절은 전사활성 조절에 의함(그림 13; Jang et al. Cell Stem Cell 2012).

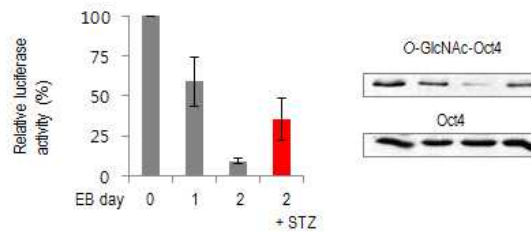


그림 13. Oct4의 O-GlcNAc PTM변형이 Oct4 전사 활성 조절

- PTM을 억제하는 화학적 저해제는 상대적으로 개발이 용이함.

○ Oct4 PTM에 대한 기존 보고 (그림 14).

- Oct4의 PTM에 대해서는 현재 10여편의 SCI급 논문이 Pubmed에서 검색됨.
- 그림 12에 정리된 바와 같이 여러 PTM이 보고되어 있으나 구체적인 기능은 아직 미 발견 혹은 논쟁 중임 (K123 Sumoylation, T235 인산화의 기능 등).
- 현재 믿을 만한 Oct4 PTM조절은 S111의 Erk에 의한 인산화, S236의 미확인된 kinase에 의한 인산화로 인한 Oct4 기능 저해 (Spelat et al. JBC 2012, Jang et al. Cell Stem Cell 2012, Brumbaugh et al. PNAS 2012) 등으로 항암 타겟으로는 부적절함.

#### Known Oct4 PTM

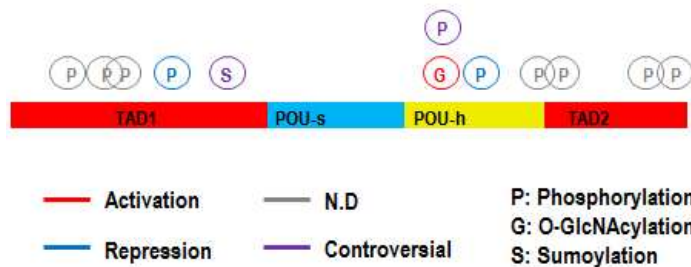


그림 14. 알려진 Oct4의 Posttranslational modification 및 그 기능

(6) Oct4 기능 조절을 통한 항암 타겟 발굴 연구의 장점

- 암의 재발 억제 : Oct4는 배아줄기세포와 생식세포 및 암줄기세포에서만 발현되고, 성체줄기세포를 포함한 다른 정상 세포에서는 발현되지 않으므로 부작용이 적은 항암 치료 가능.
- 높은 성공 가능성 : Oct4의 기능을 PTM을 통해 조절할 수 있다는 본인의 연구 결과를 바탕으로 줄기 세포에서의 연구를 암연구에 적용하는 연구로 성공 가능성이 높음.
- 여러 암에 적용 가능성 : 표준치료에 불응하는 다양한 암들에 적용될 가능성 높음.

1-3. 연구개발 범위

(1) 1차년도 : Oct4가 암 세포 성장, 사멸, 항암제 내성에 미치는 영향 규명

- 암 세포주들에서 Oct4 발현 정도, 항암제 내성 정도 파악
  - 암 세포주들에서 Oct4 및 관련 유전자 mRNA 및 단백질 발현 정도 확인
  - 암 세포주들에서 암 치료에 사용되는 화학치료제들에 대한 내성 정도 파악
- Oct4 발현이 큰 암 세포주들에서 Oct4의 기능
  - Oct4 단백질 발현 감소가 암 세포주들의 성장, 사멸에 미치는 영향 확인
  - Oct4 단백질 감소가 암 세포주들의 화학치료제들에 대한 내성에 미치는 영향 확인
- Oct4와 암세포 항암내성 획득간의 상관성 규명
  - Oct4 발현이 작은 암 세포주들에서 화학치료제 내성을 갖는 세포주 구축
  - 화학치료제 내성 획득 세포주에서 Oct4 발현이 증가되는지 관찰
  - 내성 획득 세포주에서 Oct4 발현 감소시 내성 감소하는지 관찰

(2) 2차년도 : 암 발생 과정에서 Oct4의 역할 연구

- Oct4에 의한 물질대사 조절 가능성 탐구
  - 배아줄기세포에서 Oct4 발현 변화와 lactate 생성, 산소 소모와의 상관관계 확인
  - Oct4 ChIP-sequencing 결과 분석을 통한 Oct4의 물질대사 조절 타겟 선정
- Oct4에 의한 물질대사 조절 기전 연구
  - Oct4 가 물질대사 조절 타겟을 조절하는 기전 규명
  - Oct4 에 의한 타겟 조절이 세포내 물질대사 조절에 차지하는 비중 연구
- Oct4에 의한 물질대사 조절이 줄기세포의 암화과정에 미치는 영향 연구
  - Oct4 의한 물질대사 조절이 줄기세포 유지 및 분화에 미치는 영향 연구
  - Oct4에 의한 물질대사 조절이 줄기세포의 테라토마 형성이 미치는 영향 연구
  - Oct4에 의한 물질대사 조절이 줄기세포의 암화에 미치는 영향 연구

(3) 3차년도 : Oct4의 기능을 분자수준에서 제어하는 기전 연구

- Oct4 번역후변형 (PTM; posttranslational modification) 확인
  - Endogenous Oct4 대신 Flag-tagged Oct4를 발현하는 배아줄기세포 세포주 구축 (F-Oct4 WT 세포주로 명명)

- F-Oct4 WT 세포주에서 Oct4 단백질을 정제한 후 질량분석기로 PTM 분석 의뢰
  - 기존 정보를 활용하여 심도 있게 연구할 Oct4 PTM 타겟 결정
- Oct4 기능에 필수적인 PTM들 선별
    - 배아줄기세포에서 endogenous Oct4를 특정 PTM 불가/모방 point mutants 로 치환 후 전분화능에 미치는 영향 확인
    - Oct4 특정 PTM 불가/모방 point mutants 가 체세포의 줄기세포로의 역분화에 미치는 영향 확인
  - PTM 을 통한 Oct4 기능 조절 기전 연구
    - 해당 PTM에 관여하는 효소 동정
    - 해당 PTM 의 줄기세포에서의 역할 연구
    - Oct4 PTM의 암세포주에서의 역할 연구

## 2. 국내외 기술개발 현황

- 국내 배아줄기세포관련 연구자 : 서울의대 김효수, 윤홍덕 교수, 연세대 의대 김동욱 교수, 한양대 이상훈 교수, 고려대 김종훈 교수 등이 배아줄기세포관련 연구를 세계적 수준으로 진행하고 있으나 대부분 줄기세포의 세포치료에의 응용에 초점을 맞춰 연구를 진행하고 분자수준의 기전을 연구하는 분은 극소수임.
- 국내 배아줄기세포 분자수준의 기전연구자 : 서울의대 김효수, 윤홍덕 교수 등이 배아줄기세포의 분자수준 기전 규명 관련 연구를 세계적 수준으로 진행하고 있으나 배아줄기세포를 이용한 새로운 항암 타겟 발굴과 관련된 연구를 수행하고 있지는 않음.
- 세계적으로 영국의 Austin Smith (Cambridge), 미국의 Rudolf Jaenisch (MIT), Konrad Hochedinger (Harvard), 일본의 Shinya Yamanaka (Kyoto) 교수 등 쟁쟁한 대가들이 배아줄기세포 기전에 대한 좋은 연구 결과들을 발표하고 있으나, 항암 타겟 관련 연구는 거의 진행하고 있지 않음.
- 배아줄기세포를 이용한 암 연구는 전 세계적으로 이제 갓 시작된 Blue Ocean임

### 3. 연구수행 내용 및 결과

(1) Oct4가 암 세포 성장, 사멸, 항암제 내성에 미치는 영향 규명  
 가. 난소암 및 폐암 세포주들 cisplatin에 대한 내성 정도 확인

ㄱ. cisplatin 처리 시간 결정 : 난소암 및 폐암 세포주들에 cisplatin을 다양한 농도로 24, 48, 72, 96, 120 시간 처리하여 cisplatin을 처리하지 않은 대조군에 비해 암세포 생존율을 변형 MTT방법으로 측정된 결과 (그림1) 72 h 처리하기로 결정함.

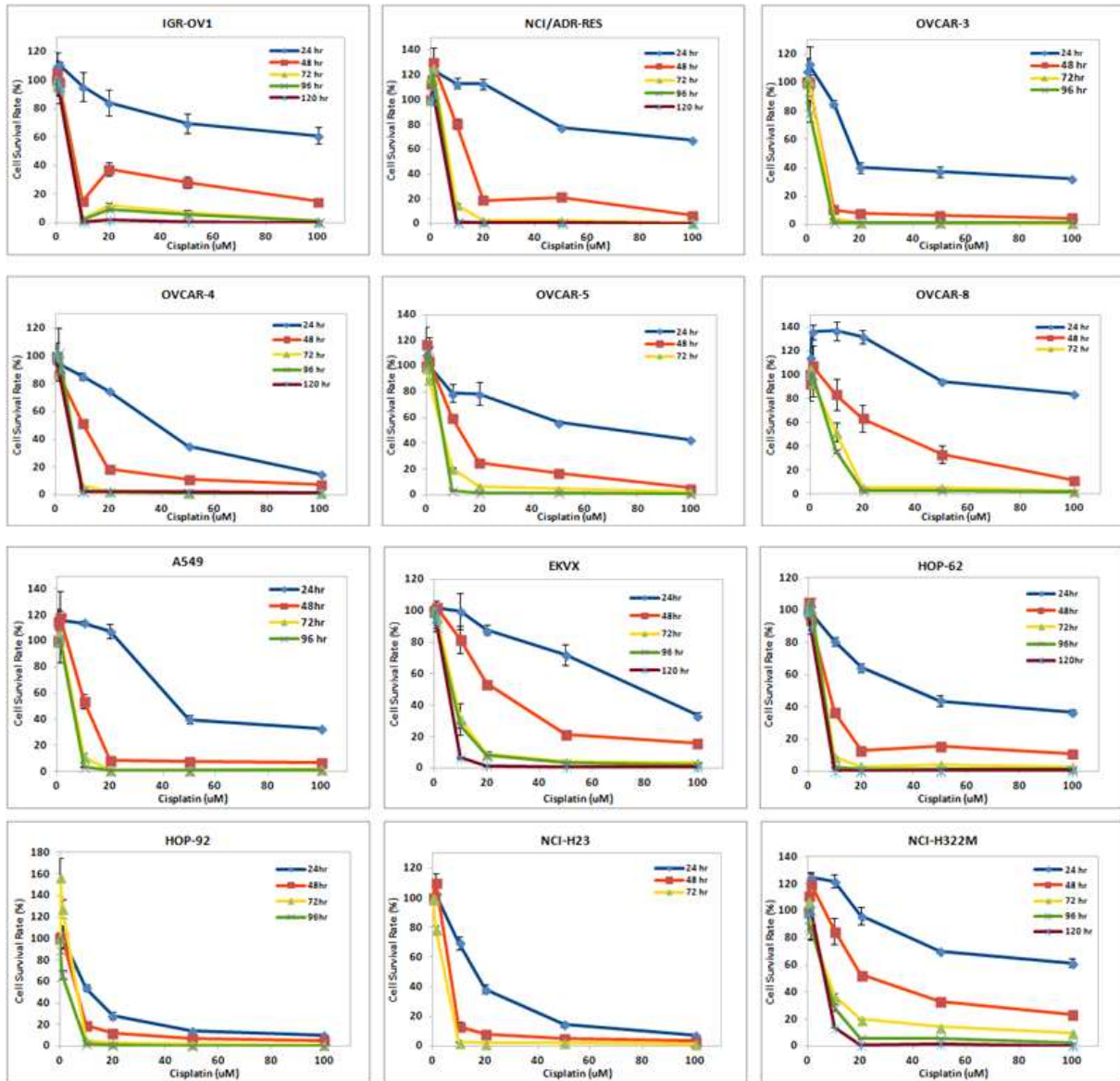


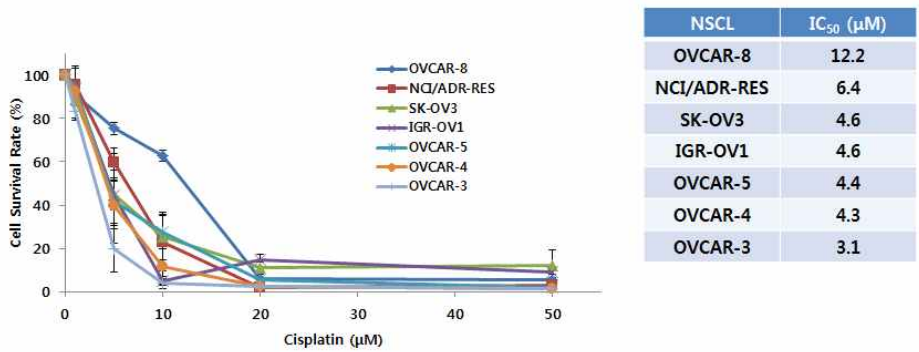
그림 1. 다양한 난소암 및 폐암세포주에서 cisplatin 처리 농도 및 시간별 암 세포 생존 정도를 변형 MTT 방법으로 측정하였다.

ㄴ. Cisplatin에 대한 IC50 결정 : 다양한 난소암 및 폐암 세포주에서 cisplatin을 농도별로 72 시간 처리하고 암세포 생존 정도를 변형 MTT방법으로 측정하여 IC50을 결정함 (그림2).

결과, 난소암 세포주에서 Cisplatin에 대한 내성 정도는 OVCAR-8 > NCI/ADR-RES > SK-OV3 > IGR-OV1 > OVCAR-5 > OVCAR-4 > OVCAR-3 순으로 측정됨.

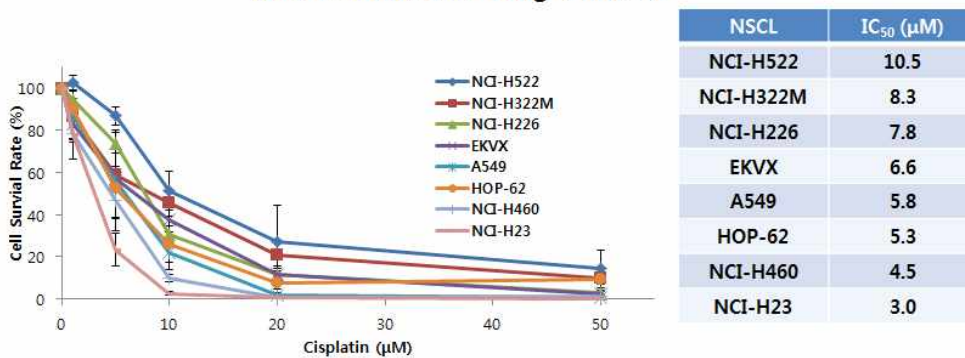
비소세포성 폐암 세포주에서는 NCI-H522 > NCI-H322M > NCI-H226 > EKVX > A549 > HOP-62 > NCI-H460 > NCI-H23 순으로 측정됨.

### Cisplatin 에 대한 IC50 (Ovarian Cancer)



Cisplatin conc. (µM)	Cell Survival Rate (%)						
	IGR-OV1	NCI/ADR-RES	OVCAR-3	OVCAR-4	OVCAR-5	OVCAR-8	SK-OV3
0	100	100	100	100	100	100	100
1	93.5±2.27	95.6±8.67	83.5±4.49	92.4±4.76	94.6±8.85	91.2±3.68	89.1±8.69
5	44.4±21.82	60.0±3.91	19.9±10.75	40.0±10.84	41.6±9.86	75.4±2.83	45.1±7.40
10	5.02±1.96	22.6±13.12	3.7±2.26	11.63±8.20	27.3±7.67	62.7±2.68	25.5±11.01
20	14.5±2.82	1.8±0.31	2.3±0.78	2.5±1.09	5.2±2.93	6.2±0.41	11.0±2.65
50	8.9±2.47	2.9±1.17	1.1±0.34	1.1±0.04	2.0±1.39	5.6±2.4	12.2±7.04

### Cisplatin 에 대한 IC50 (Non-Small Cell Lung Cancer)



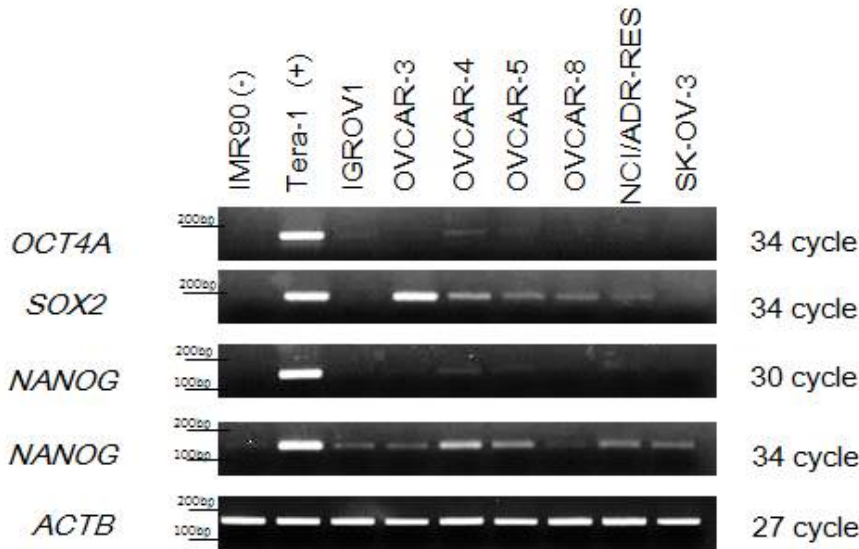
Cisplatin conc. (µM)	Cell Survival Rate (%)							
	A549	EKVX	HOP-62	NCI-H23	NCI-H226	NCI-H322M	NCI-H460	NCI-H522
0	100	100	100	100	100	100	100	100
1	86.8±4.36	83.1±6.85	90.1±1.09	77.7±11.3	94.4±0.99	86.5±12.0	78.4±2.96	102.4±3.5
5	55.9±0.61	57.0±5.72	52.3±20.1	23.3±7.73	74.1±4.83	59.1±21.0	46.9±8.29	86.8±4.20
10	21.7±7.59	37.8±6.05	26.1±8.71	2.6±0.77	30.7±1.38	45.7±6.19	10.1±1.73	51.5±9.08
20	2.0±1.00	11.6±3.94	7.7±3.16	0.4±0.19	11.5±1.63	20.9±6.19	0.9±0.18	27.3±17.0
50	0.6±0.38	2.7±0.60	9.5±2.33	0.1±0.15	3.0±1.13	9.9±1.56	1.2±0.46	14.4±9.04

그림 2. NCI-60 난소암 및 폐암 세포주에서 cisplatin을 농도별로 72시간 처리하여 암 세포 생존 정도를 변형 MTT 방법으로 측정하였다. 총 세 번의 별개의 실험을 반복하고, 그 결과 IC50 값을 구하였다.

나. 난소암 및 폐암 세포주들에 배아줄기세포 특이인자들 발현 확인

ㄱ. 난소암과 폐암세포주들에서 배아줄기세포 특이인자의 mRNA 발현 정도를 확인한 결과 OCT4A는 대부분의 세포주에서 발현 수준이 매우 낮음 (그림 3).

### ESC specific factor expression level (Ovarian Cancer)



### ESC specific factor expression level (NSCLC)

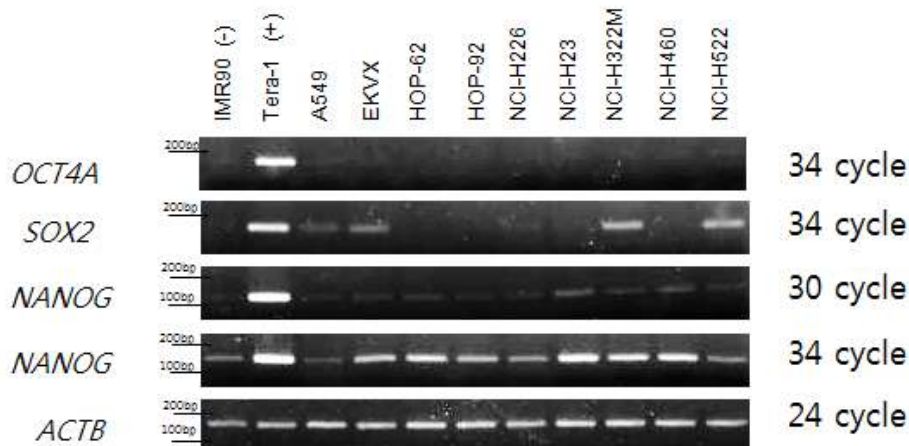


그림 3. NCI-60난소암 및 폐암세포주에서 배아줄기세포 특이인자들의 mRNA 발현 정도를 RT-PCR, semiquantitative PCR, agarose gel electrophoresis를 통해 확인하였다. Negative control로 IMR90을 Positive control로 Tera-1 세포주를 사용하였다.

ㄴ. 폐암세포주의 경우 배아줄기세포 특이인자의 단백질 발현 정도를 Western blot으로 확인한 결과 단백질 수준에서는 OCT4A와 NANOG의 발현은 관찰되지 않았고, SOX2는 일부 세포주에서 낮은 수준으로 발현되어 있음

(그림 4).

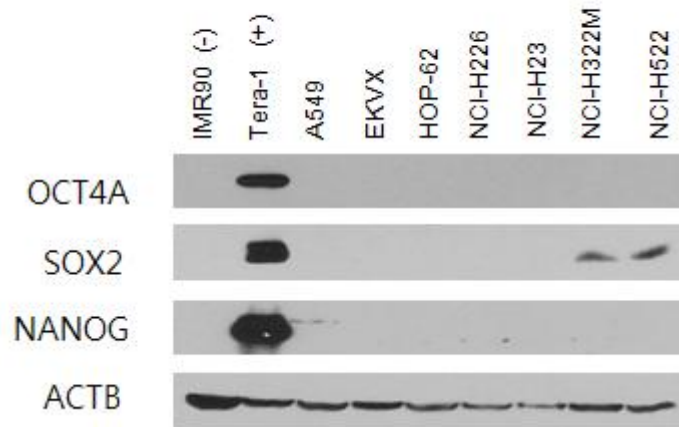


그림 4. NCI-60 폐암세포주에서 배아줄기세포 특이인자들의 단백질 발현 정도를 Western blot으로 확인하였다. Negative control로 IMR90을 Positive control로 Tera-1 세포주를 사용하였다.

다. 난소암 및 폐암 세포주들에서 배아줄기세포 특이인자들 발현 정도와 cisplatin 내성 정도 사이의 상관관계

난소암 세포주에서 OVCAR-8, NCI/ADR-RES 등이 IC50이 크지만 mRNA level에서 특별히 배아줄기세포 특이인자들의 발현 증가를 찾아보기 어려움.

비소세포성 폐암 세포주에서는 NCI-H522, NCI-H322M, NCI-H226 등의 IC50이 크지만 OCT4A, NANOG의 단백질 수준의 발현을 검출하지 못함. SOX2의 경우 내성이 큰 NCI-H322M과 NCI-H522에서 발현이 증가되어 있기는 하지만 cisplatin 내성 정도와 큰 상관관계가 있어 보이지는 않음

라. 불균일한 암 세포주들에서 Cisplatin에 대한 내성이 특히 강한 세포들이 존재함 (그림 5).

흥미롭게도 cisplatin을 50uM의 고농도로 일주일 이상 처리하였을 때도 죽지 않고 살아있는 세포들이 존재함. 대표적인 예로 몇몇 세포주에 cisplatin을 50 uM로 10일간 처리한 후 cell plate에 붙어 있는 세포들을 crystal violet으로 염색함 (그림 5). 실험에 사용한 모든 암세포주들의 cisplatin에 대한 IC50이 ~10uM 또는 그 이하인 것을 감안할 때 heterogenous한 세포주 내에 특별히 cisplatin에 대한 내성이 높은 세포들이 존재한다고 생각됨. 조금 더 연구한 결과, 실험에 사용한 모든 암세포주에서 cisplatin을 50uM의 고농도로 계속해서 2달 ~3달을 처리해도 여전히 살아있는 세포들이 존재함.



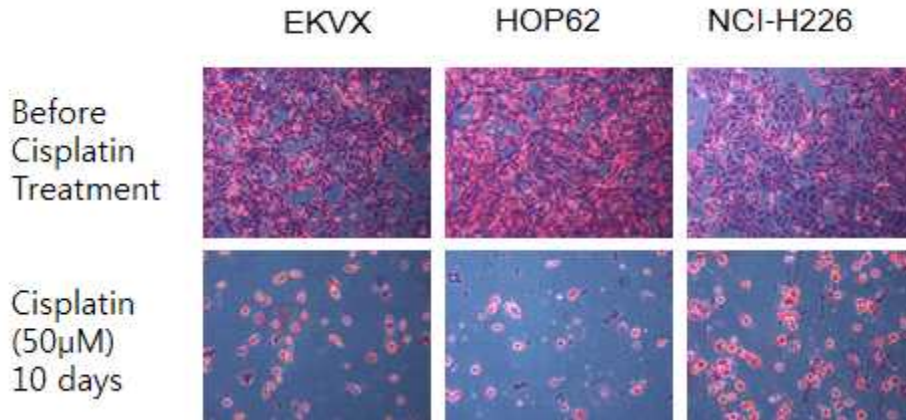


그림 5. 고농도의 Cisplatin을 장시간 처리하여도 죽지않고 살아남는 세포들이 존재함. 암세포주에 cisplatin을 고농도로 10일간 처리후 crystal violet staining으로 세포들을 염색하고 사진을 찍었다.

마. 항암제 내성이 특히 강한 세포들에 배아줄기세포 발현이 증가되어 있는 지 확인 (그림 6).

### Cisplatin Resistance Cell Populations & ESC Specific Factor

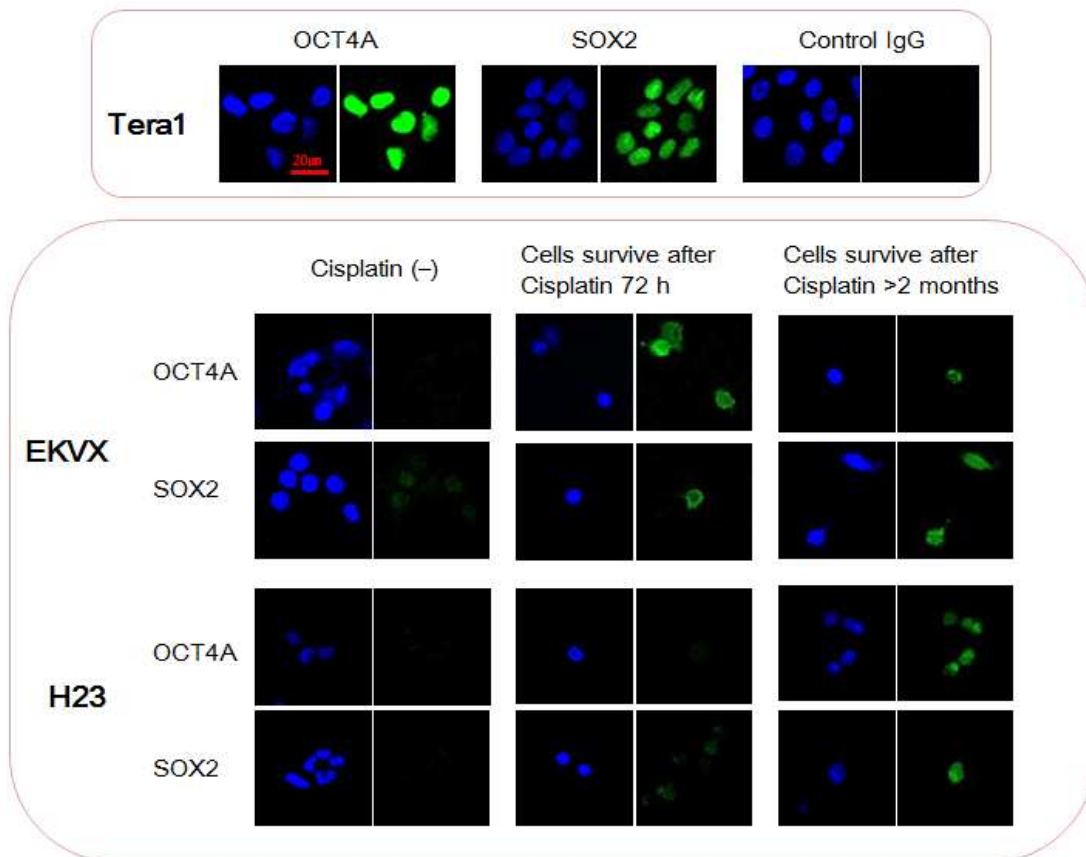


그림 6. Cisplatin 내성이 특히 강한 세포들에서 OCT4, SOX2의 발현이 증가됨.

cisplatin에 대한 내성이 특히 강한 세포들에서 배아줄기세포 인자들의 발현이 증가되어 있는 지 확인하기 위해, 면역 염색을 이용함. 먼저 Tera-1세포주를 positive control로 하여 , OCT4A, SOX2 가 특이적으로 염

색되는 것을 확인하고, 몇몇 세포주에서 cisplatin에 대한 내성이 특히 강한 세포에는 이들의 발현이 증가되어 있는 지 여부를 확인한 결과, 실제로 발현이 증가되어 있음을 확인함.

바. 불균일한 세포주내에서 처음부터 항암제 내성이 강한 세포들이 존재하고 있었을 가능성이 큼.

cisplatin에 내성이 강하면서 배아줄기세포인자들을 발현하는 세포들이 처음부터 존재하고 있었는지, 아니면 적응과정에서 생긴것인지를 확인하기 위해 cisplatin 처리하기 전의 세포를 SOX2 면역염색 후 screening한 결과 일부 세포들에서만 SOX2가 발현되는 것을 확인 (그림 7). 즉 처음부터 극소수지만 배아줄기세포인자를 발현하는 세포들이 존재하고 있었음.

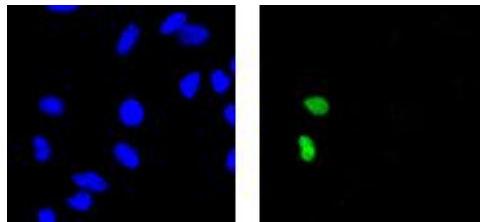


그림 7. SOX2 면역염색결과 일부의 세포에서만 SOX2가 발현됨.

사. 항암제 내성이 특히 강한 세포들에서 배아줄기세포 특이 인자들 발현을 감소시키면 내성이 감소하는지 관찰

cisplatin에 내성이 강하면서 배아줄기세포인자들을 발현하는 세포들에서 배아줄기세포 인자들이 항암제 내성에 중요한 역할을 하는 지 여부를 확인하기 위해서 배아줄기세포 인자들을 knockdown시키고 항암제를 처리한 경우 살아남는 세포가 없는 지 살펴 봄. 그 결과 Oct4가 knockdown되면 항암제 내성 세포들이 추가적으로 더 죽는 것을 확인 (그림 8).

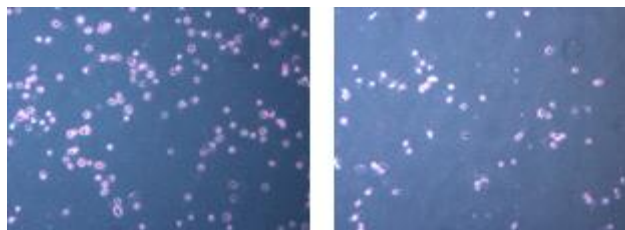


그림 8. Oct4 Knockdown시 항암제 내성 세포들이 추가적으로 더 죽음.

(2) 암 발생 과정에서 Oct4의 역할 연구

가. Oct4에 의한 물질대사 조절 가능성 탐구

Oct4가 배아줄기세포의 물질대사를 직접 조절할 수 있는 지 확인하기 위해 Oct4 제거, backup 후 해당과정의 마커인 lactate 생성 정도를 측정한 결과 lactate 생성 정도가 Oct4 레벨과 비례함을 발견. 해당과정에서 중요한 역할을 하는 효소들을 Oct4가 직접 조절할 수 있는 지 가능성을 보기 위해 Oct4 ChIP-seq 후 분석결과 Oct4가 여러 Glycolytic enzyme들의 gene region에 직접 결합함을 발견 (그림 1).

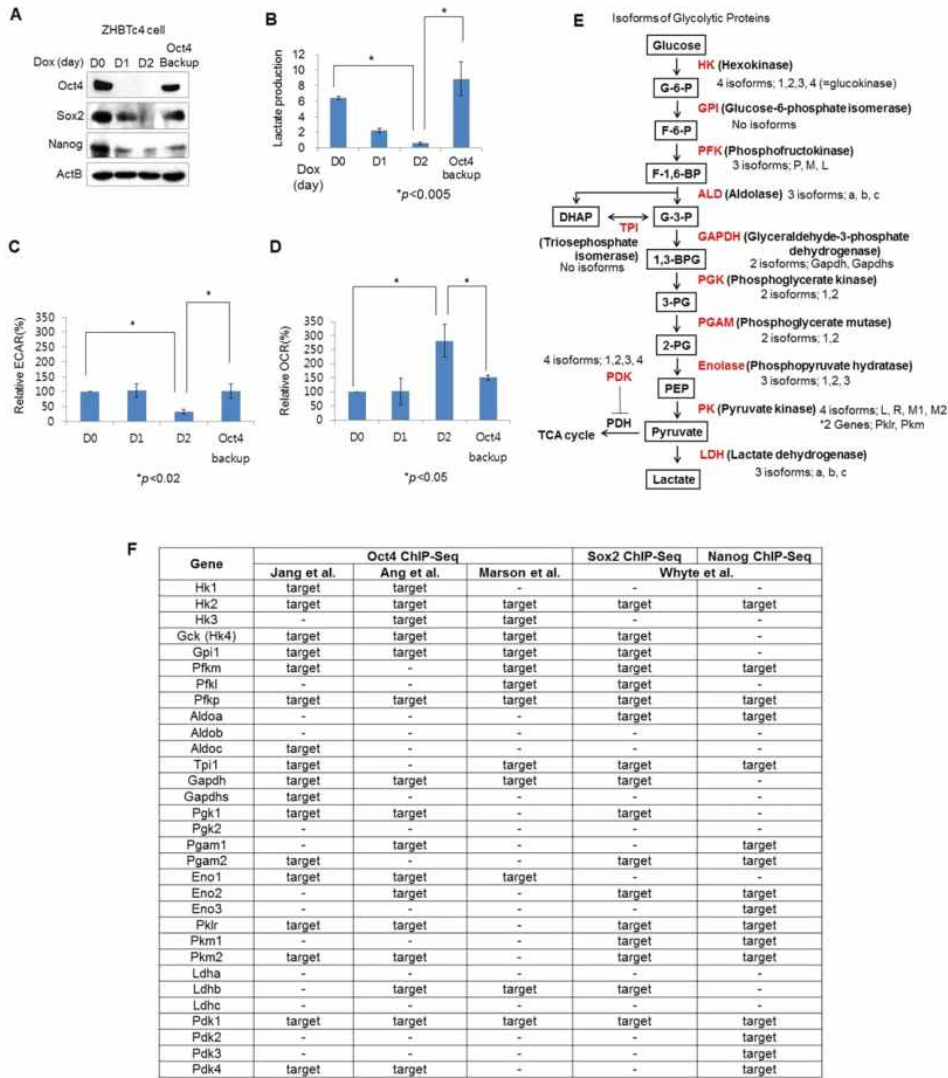


그림 1. Oct4가 배아줄기세포 물질대사를 직접 조절할 가능성이 있다.

나. Oct4가 해당과정의 속도결정단계인 HK2와 PKM2의 발현을 조절함.

Oct4가 Glycolytic enzyme들의 발현을 조절하는 지 확인하기 위해 세가지 시스템에서 Real-time qPCR로 glycolytic enzyme 들의 mRNA 발현을 조사함. 첫 번째는 줄기세포를 일반적인 배양법인 serum+ LIF 조건에서, 두 번째는 줄기세포를 2i (MEK inhibitor + GSK inhibitor) 조건에서 배양하면서 Oct4를 제거, backup하는 시스템. 세 번째는 배아줄기세포를 embryoid body 로 분화시키는 시스템. 이 세 시스템에서의 결과를 종합하면 Oct4가 HK2, PKM2, PFKP, PDK1의 mRNA를 조절하고, protein 수준으로 반영되는 유전자는 HK2, PKM2임 (그림 2).

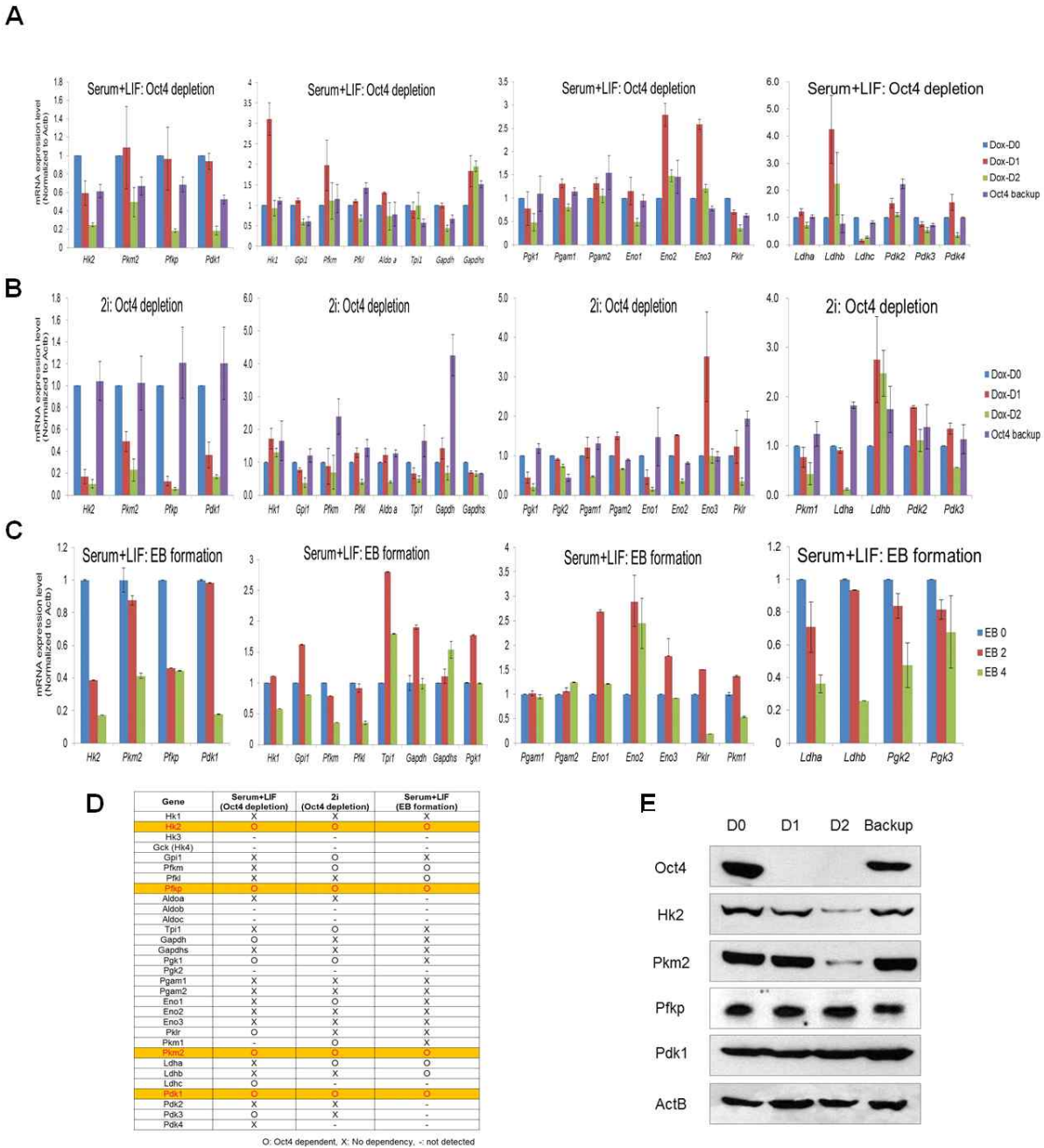


그림 2. Oct4가 HK2와 PKM2의 발현을 조절한다.

다. Oct4가 HK2와 PKM2의 발현을 직접적으로 조절함.

ChIP를 통해 Oct4가 HK2, PKM2 프로모터에 결합하는 지 확인하고, 리모터 gene을 제작하여 reporter assay를 통해 Oct4가 프로모터 활성을 조절함을 확인 함 (그림 3).

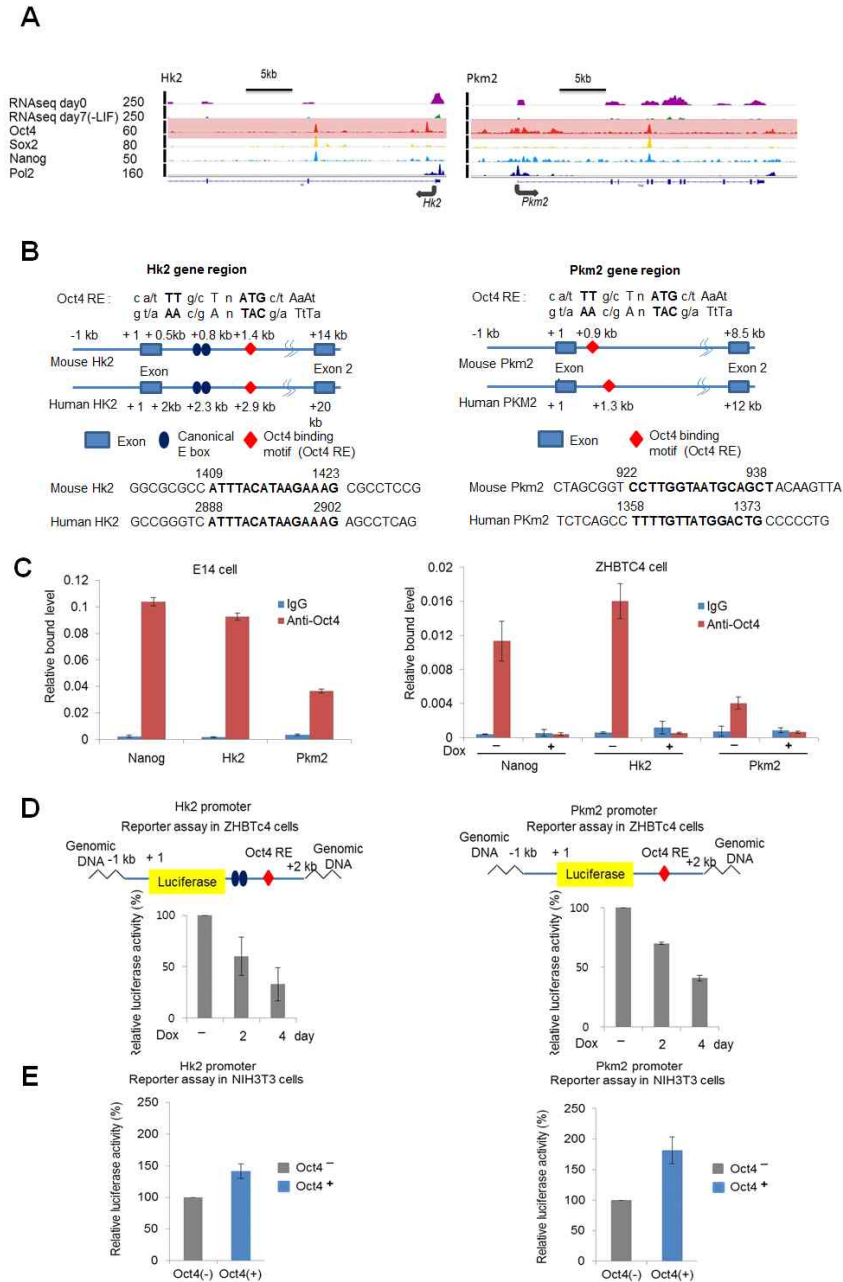


그림 3. Oct4가 HK2와 PKM2의 프로모터에 결합하고, 프로모터 활성을 조절한다.

라. 배아줄기세포 분화과정에서 HK2, PKM2 발현을 유지시켜주면 해당 과정 감소하지 않고 유지 됨.

Oct4에 의한 해당과정 조절이 가지는 생리학적 의미를 밝히기 위해 Oct4가 없는 상황에서 타깃 유전자인 HK2, PKM2의 발현을 유지시킨 경우 해당과정이 감소하지 않고 유지 됨 (그림 4).

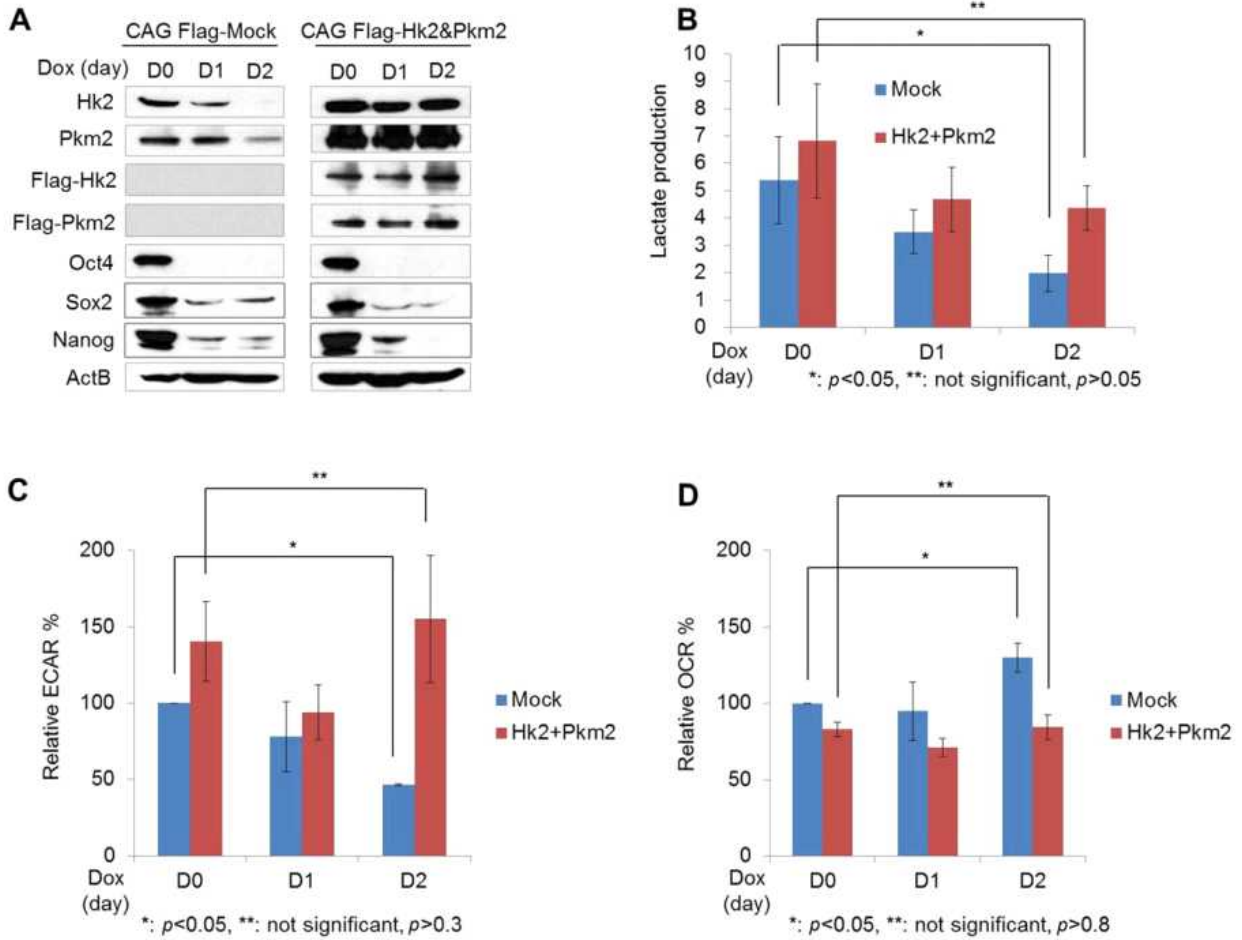


그림 4. HK2, Pkm2를 동시에 과발현 시켜주면 Oct4가 없어도 해당과정이 높게 유지됨

마. 배아줄기세포 분화과정에서 해당과정을 높게 유지하면 줄기세포 분화가 느려짐

Oct4가 없는 상황에서 타깃 유전자인 HK2, PKM2의 발현을 통해 해당과정을 유지시키면서 줄기세포를 분화시키고, 분화 정도를 alkaline phosphatase 염색으로 확인한 결과 분화가 느려짐. 또한 그 조건에서 lactate 생성의 정상적인 증가, 산소 소모의 정상적임 감소가 이루어지지 않음을 확인 (그림 5).

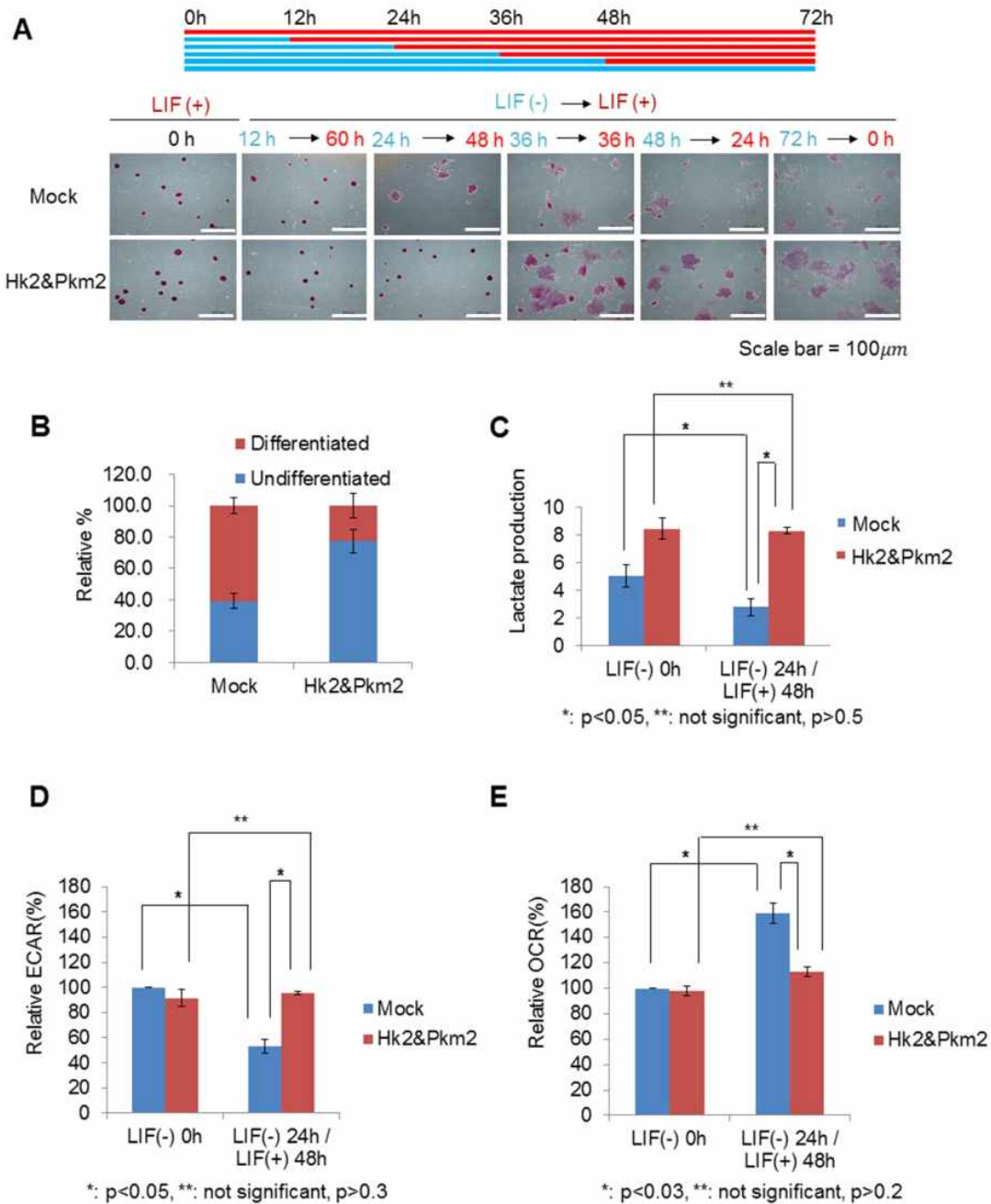


그림 5. 배아줄기세포 분화과정에서 해당과정을 높게 유지하면 줄기세포 분화가 더디어 짐

바. 배아줄기세포 분화과정에서 해당과정을 높게 유지하면 암 유사-세포가 형성됨.

HK2, PKM2의 발현을 높게 유지하면 일부 줄기세포가 오랫동안 분화되지 않고 유지되며, 분화조건에서도 teratoma 형성 능력을 지님(그림 6). 또한 teratoma의 경계가 일부 불분명하여 암화된 듯한 현상을 보임 (Data not shown).

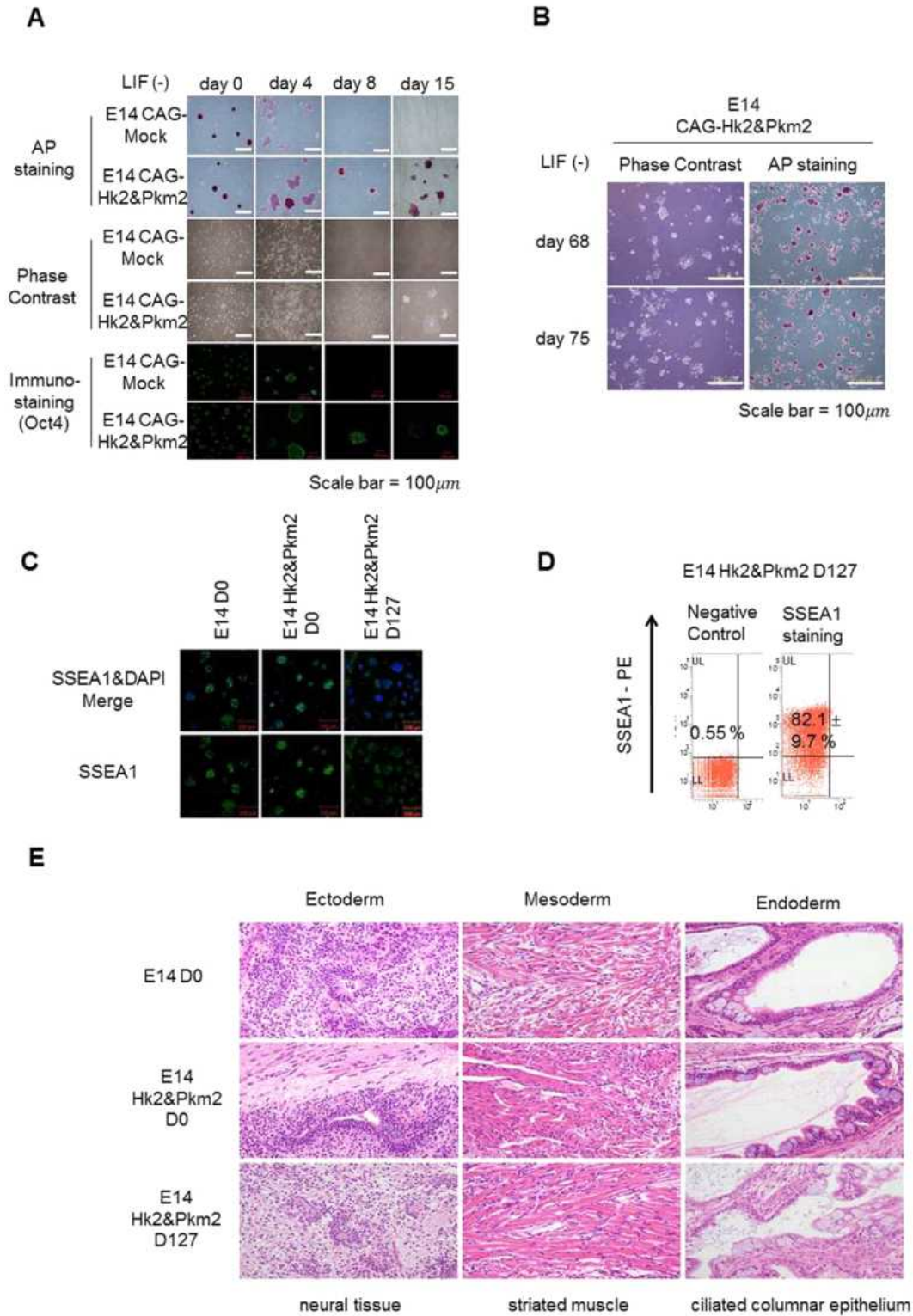


그림 6. 해당과정을 높게 유지하면 일부 줄기세포가 분화조건에서도 계속 줄기세포성 유지



사. 배아줄기세포 분화과정에서 해당과정을 높게 유지한 세포의 분자수준의 특징

Oct4가 감소하더라도 해당과정이 높게 유지되면 배아 줄기세포가 정상적으로 분화되지 않고 암-유사세포로 변하는 이유를 분자수준에서 밝히기 위해 RNA-seq을 수행하여 분석함. 그 결과 일반적으로 배아줄기세포 분화과정에서 노화, 세포사멸에 관계된 유전자들의 발현이 증가하고, 세포성장과 관련된 유전자들의 발현이 감소하는데, 해당과정이 높게 유지된 세포는 노화, 세포 사멸과 관련된 유전자들의 발현이 억제된 채로 유지되는 것을 확인 (그림 7).

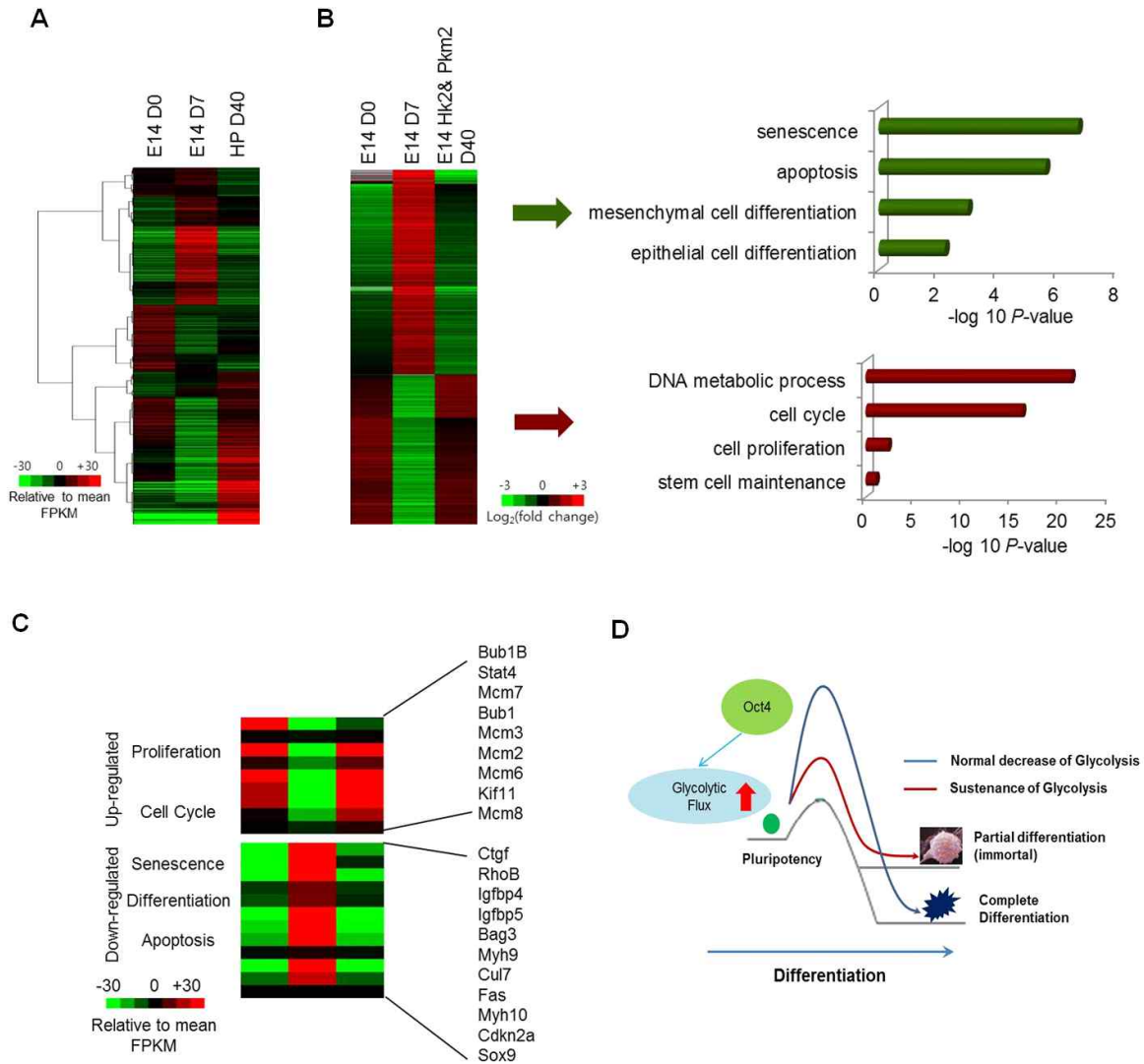


그림 7. 암-유사 세포의 분자적 특징

(3) Oct4의 기능을 분자수준에서 제어하는 기전 연구

가. Oct4 알려진 번역후변형 (PTM; posttranslational modification)을 문헌조사를 통해 모두 확인하고, 해당 위치에 PTM 불가 돌연변이체를 만듦 (그림 1).

**Oct4 의 알려진 PTM 에 대한 기능 연구**

hOCT4	mOCT4	PTM	H and M Conserved?	Function
S12		P	O	hS12-DFAFSPPPG mS12-DFAFSPPPG ↑
(T92)		P	O	hT92-GGLETSQPE mT87-VGVETLQPE ND
(S93)		P	X	hS93-GLETSQPEG mL88-VGVETLQPEG ND
(S105)		P	O	hS105-VGVESNOGA mS100-ARVESNSEG ND
(S107)		P	O	hS107-VESNSDGAAS mS102-VESNSDGAAS ND
S111		P	O	hS111-SDGAASPEPC mS106-SEGTSSEPC ↓
(T116)		P	X	hT116-PEPCTVTPG mA111-SEPADRPN ND
T118		P	X	hT118-PCTVTPGAV mR113-PCADRPN ND
				hK123-PGAVKLEKE mK118-PNAVLEKV ↓
K123	K118	Sm	O	↑
				↓
				↓
				↓
				↓
				↓
T235	T228	P	O	hT235-KRKRTSIEN mT228-KRKRTSIEN ↑
		G		↑
				↓
S236	S229	P	O	hS236-RKRTSIENR mS229-RKRTSIENR ND
				↓
S288		P	O	hS288-KGKRSSSDY mS281-KGKRSSIEY ND
S289		P	O	hS289-GKRSSDYA mS282-GKRSSIEYS ND
(T352)		P	X	hT352-VSVTTLGSP mA344-VPVTLALGSP ND
S355		P	O	hS355-TLGSMPMH5 mS347-TALGSMPMH5 ND
(S359)		P	O	hS359-SPMH5N mS351-SPMH5N ND

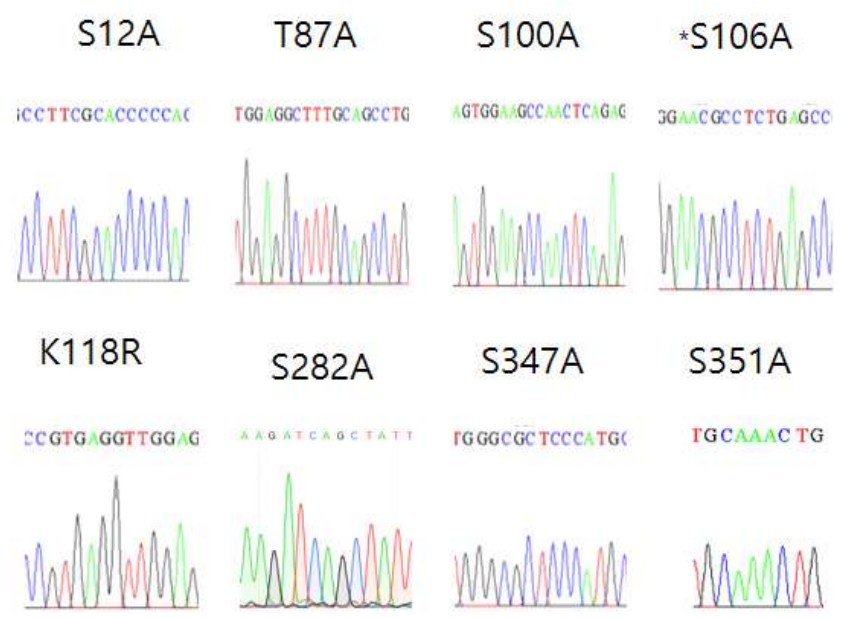


그림 1. Oct4의 알려진 PTM과 해당 PTM이 일어나지 못하는 돌연변이체 제작

나. Oct4 기능에 필수적인 PTM들 선별 1

Oct4 PTM의 기능을 생리학적인 조건에서 정확히 파악하기 위해 endogenous Oct4대신 Flag-tagged Oct4를 원래 존재했던 endogenous level만큼만 발현시키는 시스템 확립 (그림 2).



그림 2. endogenous Oct4를 제거하고 exogenous Oct4를 physiological level로 정교히 다시 넣는 시스템

다. Oct4 기능에 필수적인 PTM들 선별 2

확립된 시스템으로 모든 위치 스크리닝. 그 결과 생리학적으로 중요한 PTM이 여러곳 동정됨 (그림 3).

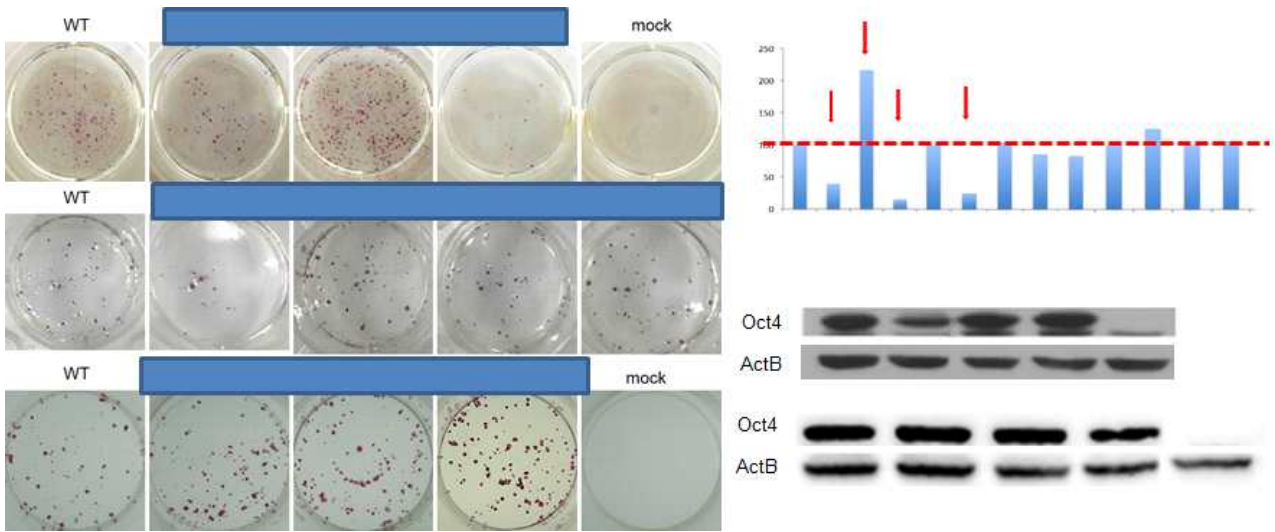


그림 3. 줄기세포성 유지에 필수적인 Oct4 PTM 선별

라. 선별된 PTM 중 Oct4 229번 인산화의 기능 및 기전 연구

ㄱ. Oct4 S229 인산화를 질량분석기로 재 확인하고, S229 인산화 특이적 항체를 제작함. 또한 S229 인산화가 Oct4 전사활성을 저해해 줄기세포 자기재생을 방해하는 것을 확인 (그림 4)

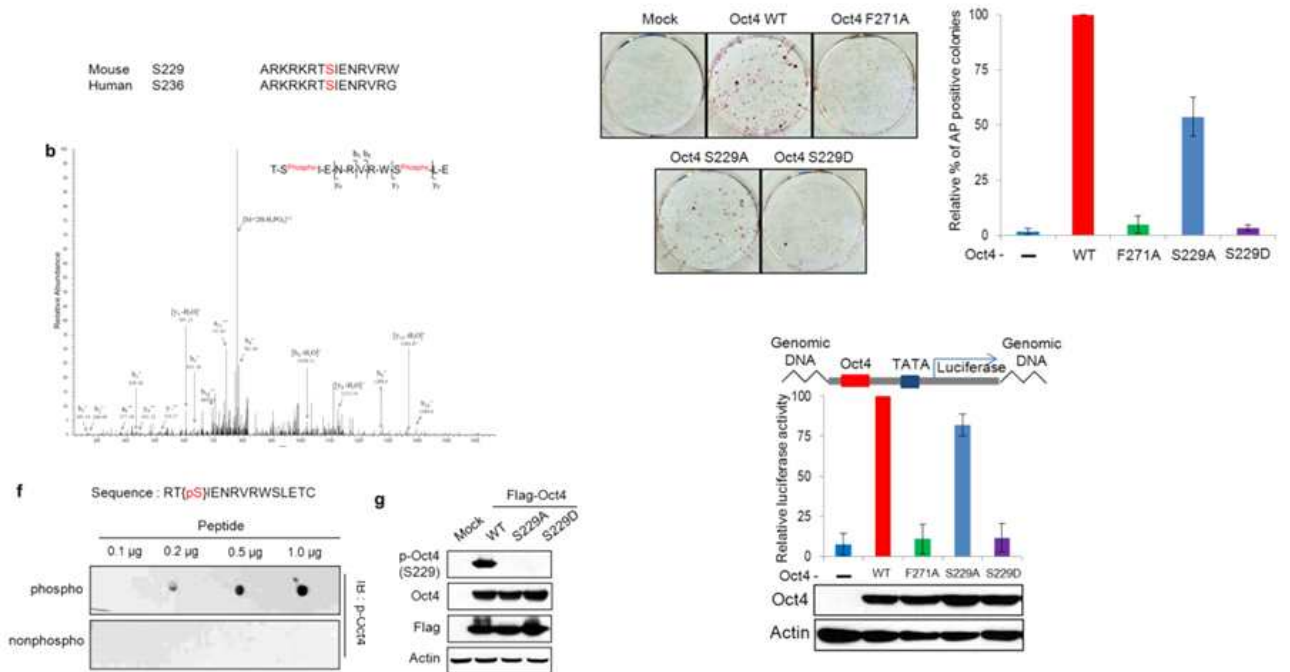


그림 4. Oct4 S229 인산화 확인, 특이적 항체 제작, 줄기세포성, 전사활성에 미치는 영향 확인

ㄴ. Oct4 S229 인산화를 유도하는 kinase가 Aurkb임을 in sillico analysis 기반 타겟 동정, in vitro kinase assay, shRNA를 이용한 세포수준의 검증을 통해 밝힘 (그림 5)

### Oct4 S229 – 인산화 : kinase → Aurkb

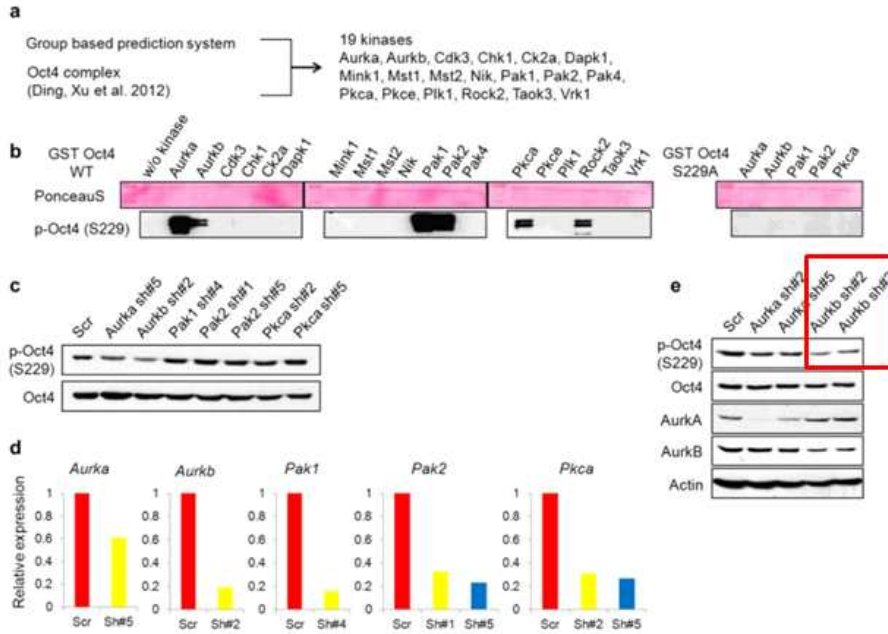


그림 5. Oct4 S229 인산화는 Aurkb에 의해 이루어 짐

ㄷ. Oct4 S229 인산화를 떼내는 phosphatase가 PP1임을 sequence-base prediction과 검증을 통해 밝힘(그림 6)

### Oct4 S229 – 인산화 : phosphatase → PP1

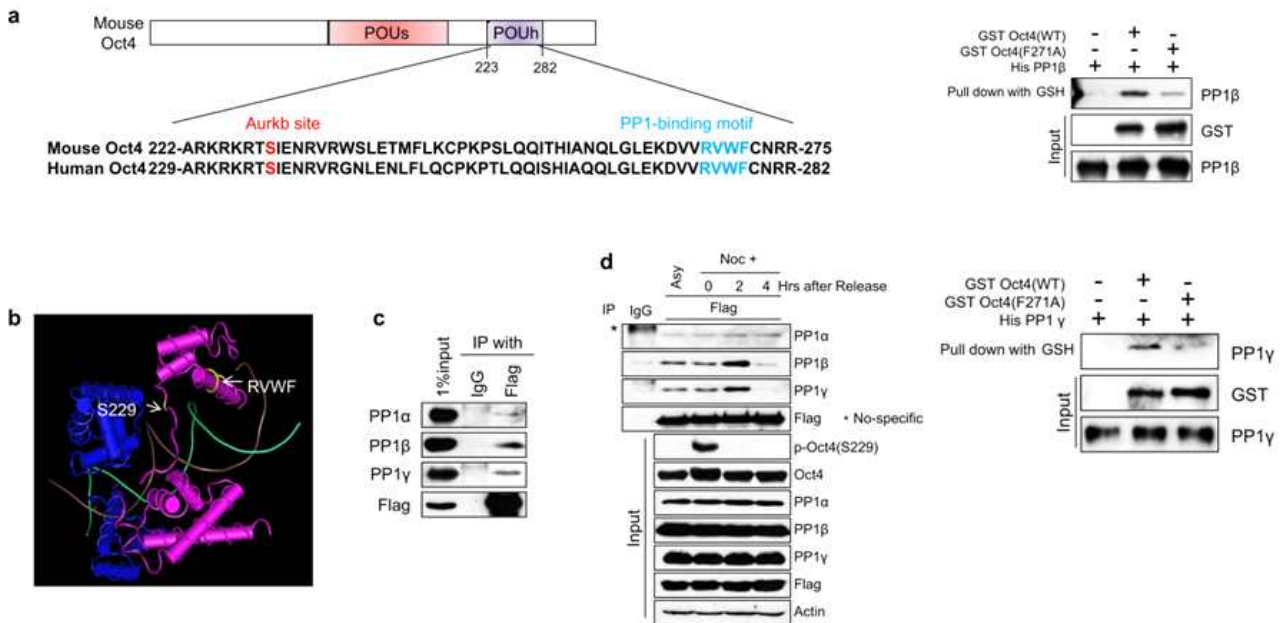


그림 6. Oct4 S229 인산화는 PP1에 의해 떨어 짐

Oct4 S229 인산화는 G2/M에 증가함을 immunostaining, cell cycle arrest 후 시간별 release를 통한 WB, FACS 분석을 통해 밝히고, DNA 결합에 영향을 줌을 chromatin IP를 통해 밝힘 (그림 7).

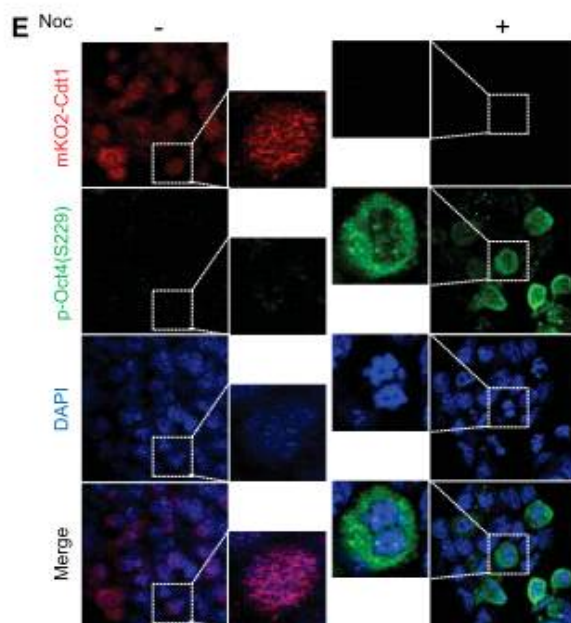
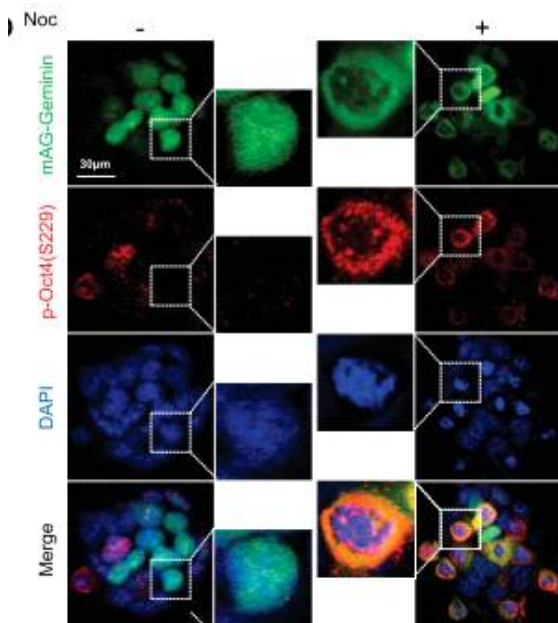
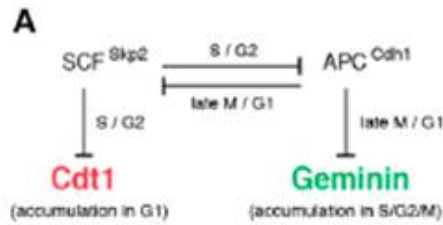
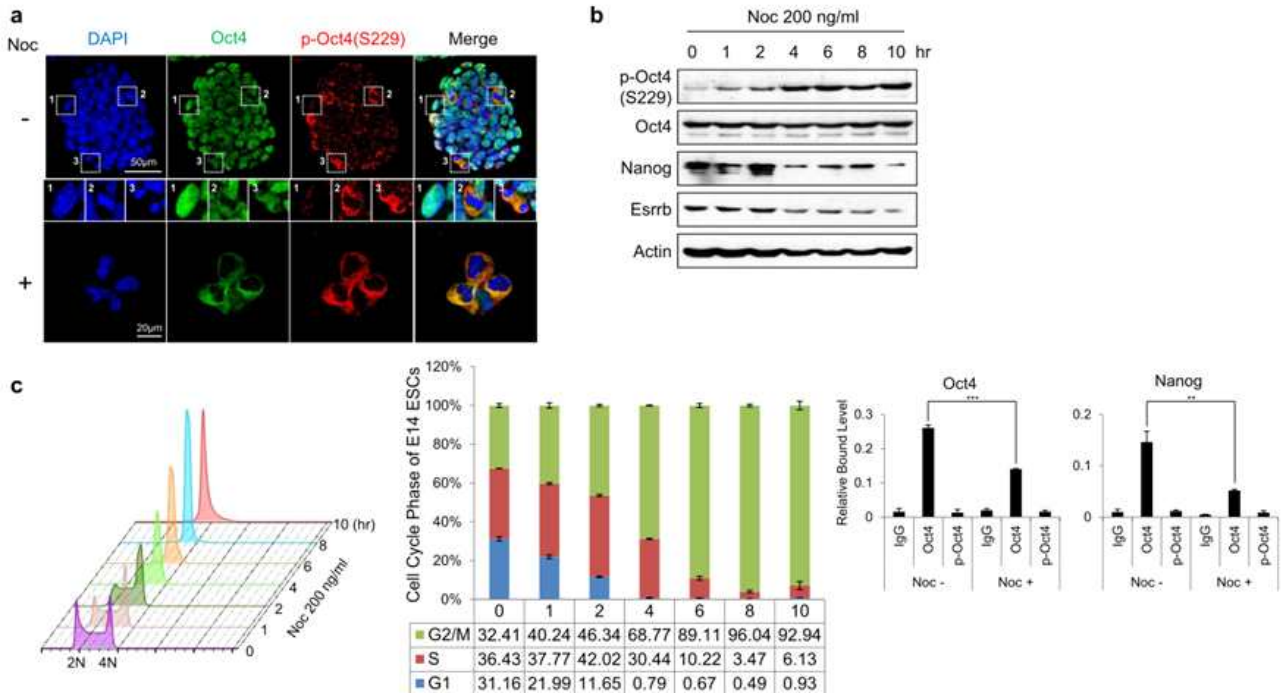


그림 7. Oct4 S229 인산화는 G2/M에 증가하고, DNA 결합에 영향

㉠. PP1 저해를 통해 Oct4 S229 인산화를 계속 유지 시키면 pluripotency가 factor들이 다음 G1 phase에서 정상적으로 발현되지 못함을 real-time qPCR과 Chromatin IP를 통해 밝힘 (그림 8).

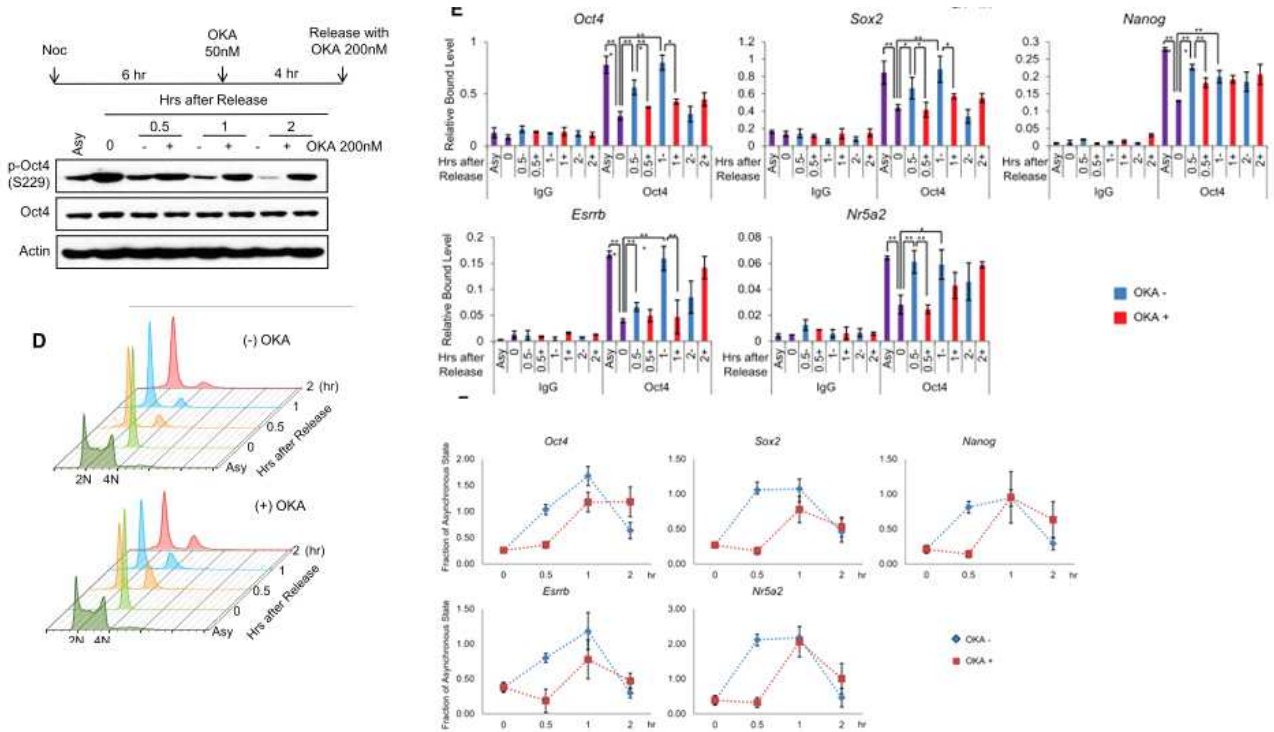


그림 8. Oct4 S229가 지속되면 다음 G1에서 Pluripotency marker들의 발현이 delay 됨

㉡. ChIP-seq, RNA-seq을 분석하고, real-time qPCR로 검증한 결과 Oct4의 인산화는 특히 세포주기 관련 유전자를 조절하고, 최종적으로 세포주기와 전분화능을 연결하는 연결고리 역할을 함 (그림 9).

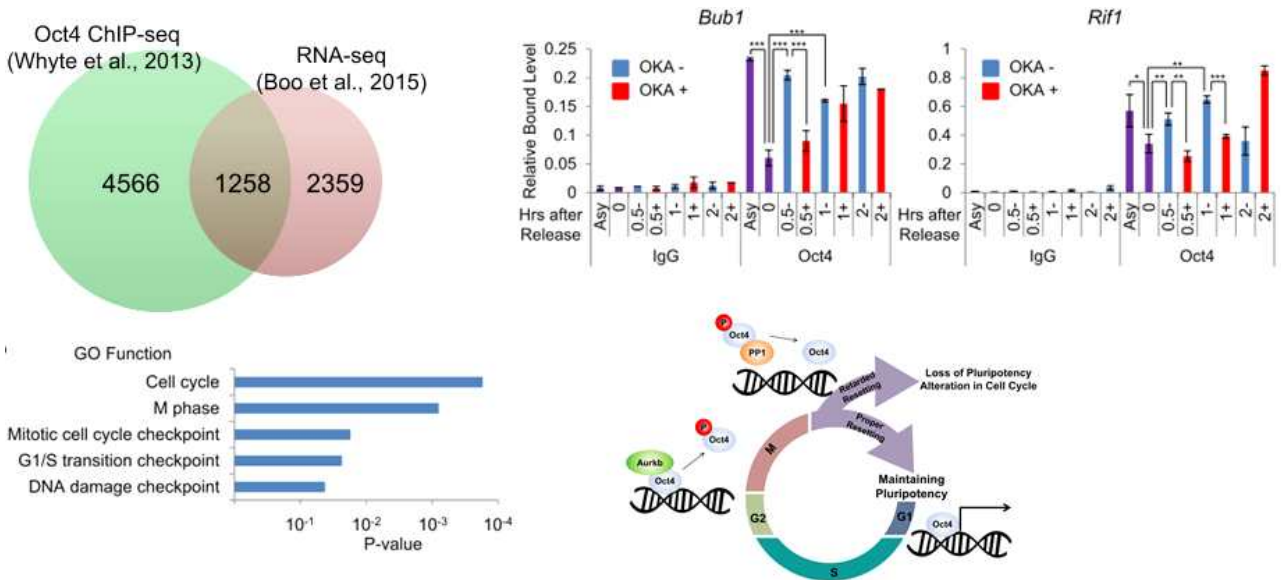


그림 9. Oct4 S229 인산화는 세포주기와 전분화능을 연결하는 연결고리 역할을 함

마. 선별된 PTM 중 Oct4 X01번 인산화의 기능 및 기전 연구

-X01번 인산화가 불가능한 mutant와 mimic하는 mutant를 이용해 X01번 인산화가 줄기세포 자기재생능력 유지에 중요함을 확인하고, 해당 PTM을 특이적으로 인지할 수 있는 항체를 제작함 (그림 10)

### Oct4 의 X01번 인산화

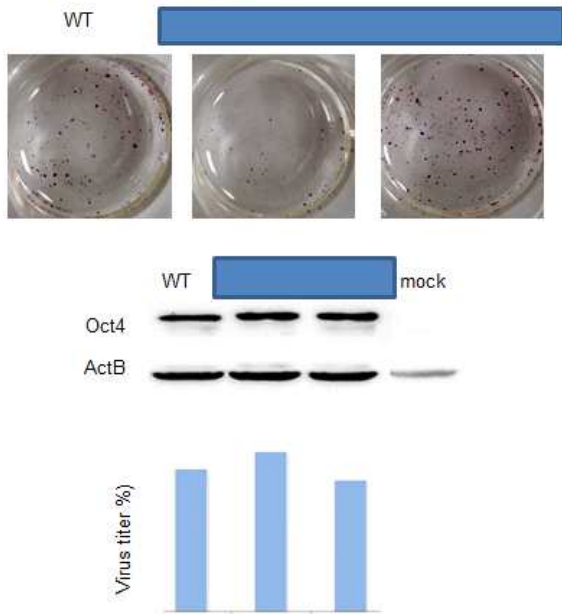
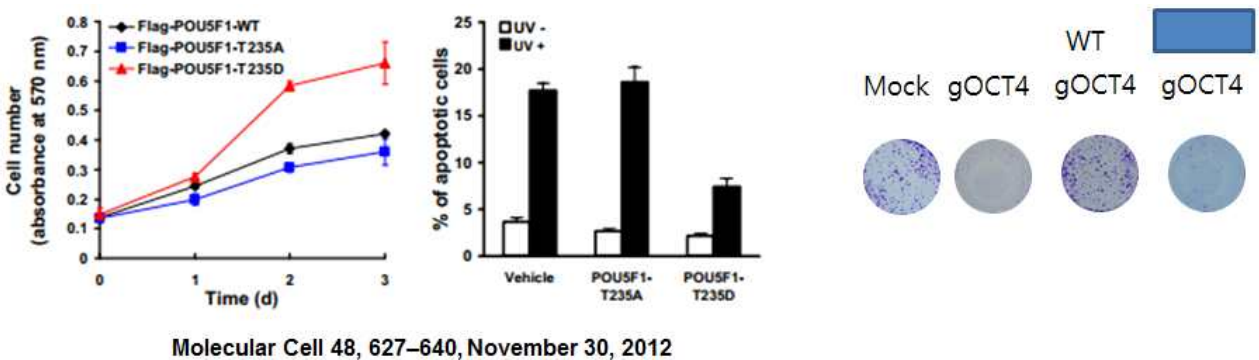


그림 10. Oct4 S229 인산화는 세포주기와 전분화능을 연결하는 연결고리 역할을 함

-X01번 인산화가 불가능한 mutant의 암세포에서의 역할을 확인하기 위해 embryonal carcinoma인 Tera-1에 Oct4를 knockdown시키고, mutant를 backup하는 실험 진행 중 (그림 11)



Molecular Cell 48, 627-640, November 30, 2012

그림 11. Oct4의 embryonal carcinoma에서의 역할을 보여준 논문의 예와, 우리팀 실험 결과로 Oct4가 없으면 Tera-1 cell survival이 잘 이루어지지 않는 결과

(4) 연구개발 성과

○ 논문 게재 성과

순번	논문명	게재지 (권, 쪽)	게재연도 (발표연도)	역할	비고 (Impact Factor)
1	Core Pluripotency Factors Directly Regulate Metabolism in Embryonic Stem Cell to Maintain Pluripotency.	<i>Stem Cells</i> 33(9):2699-711.	2015	제1저자	6.523
2	Ctbp2 Modulates NuRD-Mediated Deacetylation of H3K27 and Facilitates PRC2-Mediated H3K27me3 in Active ESC Genes During Exit From Pluripotency.	<i>Stem Cells</i> 33(8):2442-55.	2015	공동저자	6.523
3	Pontin Functions as an Essential Coactivator for Oct4-Dependent LincRNA expression in Mouse Embryonic Stem Cells.	<i>Nature Comm.</i> 6:6810.	2015	공동저자	11.470
4	AKT phosphorylates H3-threonine 45 to facilitate termination of gene transcription in response to DNA damage.	<i>Nucleic Acids Res.</i> 43(9):4505-16	2015	공동저자	9.112
5	ATP-citrate lyase regulates cellular senescence via an AMPK- and p53-dependent pathway.	<i>FEBS J.</i> 282(2):361-71.	2015	공동저자	4.001
6	Modulation of lysine methylation in myocyte enhancer factor 2 during skeletal muscle cell differentiation.	<i>Nucleic Acids Res.</i> 42(1):224-34.	2014	공동저자	8.808

1 번 논문 : 본 과제 2년차 연구결과로 **Oct4**가 줄기세포 물질대사를 직접 조절하여 암화과정에서 역할을 담당한다는 내용임. stem cell 분야 ranking 2위, Oncology 분야 상위 10% 논문인 stem cells에 게재

2번 논문 : **줄기세포성**을 조절하는 후성유전학적 기전을 규명하여 stem cells에 게재

3번 논문 : **Oct4**를 조절하는 새로운 인자인 Pontin의 역할을 규명. Nature 자매지 게재

4번 논문 : AKT는 2012년에 **Oct4**의 228번 threonine을 인산화 시켜 Oct4 기능 조절에 관여한다고 보고된 kinase로 이 논문에서는 AKT에 의한 후성유전학적인 조절에 관해 연구함.

5번 논문 : 물질대사 조절과 관련된 ACLY의 AMPK, p53 경로 조절 역할을 규명함. 미 발표 결과로 **Oct4**가 ATP level, AMPK와 연관되는 예비실험 결과가 있음

6번 논문 : 줄기세포 분화과정에서 후성유전학적인 조절 기전에 관한 연구

1. Aurkb/PP1-mediated resetting of Oct4 during the cell cycle determines the identity of embryonic stem cells. **eLIFE (IF=9.322, Biology 분야 상위 3.5%)**

--> Oct4-229인산화를 연구한 3년차 연구 결과의 일부를 정리하여 2016년 2월 최종 accept 및 출간됨

2. 추가 1곳의 Oct4 PTM의 기능을 연구한 결과를 2016년까지 정리하여 논문 submission할 예정



○ 기관의 전략체계와의 연관성

- 본과제는 우리 기관에서 주력하는 4대 연구분야 중 “정밀의학 실현 암 기반 연구”의 일환으로 특히 “발암 및 암전이 기전연구”와 연관된 과제임.
- 암의 원인이 되는 초기세포 (cancer cell or origin)은 그 유래가 줄기세포이거나, 분화세포가 역분화를 통해 줄기세포성을 지니게 되었을 것이라고 생각됨.
- 또한 표준 항암요법 후 항암제 내성을 띠고 살아남아 나중에 전이/재발을 일으키는 세포도 줄기세포성을 지니고 있을 것으로 생각됨
- 표준 항암요법 시행시, 환자마다 response가 다른 이유는 환자마다 cancer cell of origin 혹은 전이/재발의 원인이 되는 줄기세포성을 띤 암세포 (cancer cells with stemness)가 다르기 때문임.
- 정밀의학 구현을 위해서는 환자 개개인의 stemness를 띤 암세포가 어떤 분자적, 생리학적 특징을 가지고 있는지? 또한 어떻게 해당 세포를 사멸시킬 수 있는 지 연구할 필요가 있음.
- 또한 해당 암세포가 어떤 줄기세포인자들의 네트워크에 의해 줄기세포성을 유지하는 지 연구할 필요가 있음
- 본 연구결과 배아줄기세포 핵심인자인 Oct4가 핵심적인 역할을 하는 암세포군이 있음을 밝힘
- 또한 Oct4를 기능적으로 제어하여 실제 암환자 치료에 어떻게 적용할 것인지에 대한 연구를 진행함
- 본 과제 연구 결과를 심화하면, 환자들 중 Oct4가 항암제 내성, 전이, 재발에 중요하게 작용하는 환자를 선별하고, 해당 환자에 대해 Oct4 PTM을 저해하는 drug을 처방하는 방식으로 정밀의학 실현의 기반이 될 것임.

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

4-1 목표달성도

가. 연도별 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도

구분	연구목표	세부연구 목표	평가목표 및 착안점	가중치	달성치
1차년도 (2013)	Oct4가 암 세포 성장, 사멸, 항암제 내성에 미치는 영향 규명	암 세포주들에서 Oct4 발현정도 및 항암제 내성 정도 파악	Oct4 단백질 발현정도 및 항암제 내성정도 정리	10 %	100%
		Oct4와 암세포 항암내성 획득간의 상관성 규명	항암제 내성 획득 정도와 Oct4 발현간의 상관관계 규명	10%	100% 100%
2차년도 (2014)	암 발생 과정에서 Oct4의 역할 연구	Oct4에 의한 물질대사 조절 기전 연구	Oct4가 물질대사를 조절하는 구체적인 기전을 밝혔는가?	20 %	100%
		암 발생과정에서 Oct4-물질대사의 역할 연구	Oct4-물질대사와 암 발생과의 관련성을 찾았는가?	20%	100% 100%
3차년도 (2015)	Oct4의 기능을 분자수준에서 제어하는 기전 연구	Oct4 기능에 필수적인 PTM들 선별	Oct4 기능에 중요한 PTM들을 선별하였는가?	10 %	100%
		Oct4 기능을 핵심적으로 조절하는 PTM의 작용 기전 규명	1건 이상의 PTM에 대해 Oct4활성을 조절하는 구체적인 기전을 찾았는가?	10%	100%
		Oct4 PTM 유발/ 제거 인자 규명	1건 이상의 PTM에 대해 해당 PTM 유발 혹은 제거 인자를 찾았는가?	10%	100%
		Oct4 PTM dysregulation의 암에서의 역할 규명	Oct4 PTM dysregulation의 암에서의 중요한 역할을 1건 이상 찾았는가?	10%	100%

나. 정량적 연구성과 목표 및 달성도

	1차년도	2차년도	3차년도	계
목표(편수/IF)			사사 1 편 / 5	3편/20 (최종)
발표 논문		1편 /8.808	5편 / 37.629	6편 / 46.437
(사사)			1편 / 6.523	1편 / 6.523
(비사사)		1편 /8.808	4편 / 31.106	5편 / 39.914
2016년도 논문				1편 / 9.322
달성도		100%	100%	100%

4-2 관련분야 기여도

- 암 에서 Oct4의 역할에 대한 연구는 전세계적으로 hot한 이슈임. (2015.10.26.현재 Pubmed에서 Oct4-Cancer 로 검색하면, 2015년도 발표된 논문만 195편임.)
- Oct4에 의한 해당과정조절과 암화와의 관련을 연구한 내용은 stem cells 지에 실림. stem cells 지는 줄기세포 분야 ranking 2위, Oncology 분야 상위 10%에 해당하는 논문으로, 본 연구 결과의 중요성 및 관련분야 기여를 세계가 인정한 결과로 생각함
- Oct4 기능조절을 위한 PTM 관련 연구는 2012년 Cell stem cell, Mol Cell, 2013년 stem cells, Nat cell biology , 2014년 Science report지 등 세계 탑 저널에 게재되고 있음.
- 본 연구 결과인 Oct4 - Serine 229 인산화 기전에 대한 연구는 현재 Biology 분야 Top 3.5%에 해당하는 eLIF 지 (IF = 9.322)에 2016년 2월 출간되었고, Oct4 기능 조절 관련 분야 연구를 선도하고 있음.

5. 연구결과의 활용계획

5-1 추가 연구의 필요성

- 현재 기전을 상세히 밝힌 Oct4 S229인산화는 인산화에 의해 세포주기가 조절되고, 탈인산화 효소를 block하면 인산화가 유지되면서 줄기세포성이 감소함
- 암세포에서 탈인산화 효소 block을 통해 Oct4의 기능을 약화시키는 전략에 대한 추가적인 연구가 필요함
- 현재 진행중인 Oct4 X01 인산화의 경우 인산화가 없으면 줄기세포성 유지 능력이 현저히 떨어지고, 인산화를 올리면 줄기세포성 유지 능력이 증가함.
- Oct4 X01 인산화를 유도하는 효소를 동정하고, 구체적인 분자수준에서의 기전을 연구할 필요가 있음
- 또한 Oct4 X01 인산화는 암세포의 생존에 중요할 것이라는 실험결과가 나오고 있음. 좀더 자세히, 정확히 검증하고, 관련 기전을 연구할 필요가 있음

5-2 타 연구에의 활용

- 줄기세포성을 가진 암세포를 타깃하기 위해서는 여러 줄기세포 핵심인자들 풀에서 어떤 인자들의 네트워크에 의해 해당 암세포가 줄기세포성을 유지하는 지 알아야 함.
- 또한, 해당 줄기세포 인자들의 네트워크를 규명한 경우, 중요 인자들을 기능적으로 제어할 수 있는 방법이 있어야 함.
- 본 연구를 통해 양성된 인력, 셋팅된 실험방법들은 향후 SOX2, Nanog, Lgr5 등 다른 줄기세포 핵심 인자들의 PTM연구 및 기능 제어 연구에 활용될 수 있을 것으로 기대함.

## 6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

○ 암에서 Oct4의 역할에 대한 정보

- Oct4가 PTEN, TNC 유전자를 조절하여 폐암의 항암제 내성과 전이능력에 영향을 준다는 논문

*Nucleic Acids Research*, 2015, Vol. 43, No. 3 1593-1608

### **Global Oct4 target gene analysis reveals novel downstream *PTEN* and *TNC* genes required for drug-resistance and metastasis in lung cancer**

Yen-An Tang<sup>1,2</sup>, Chi-Hsin Chen<sup>2</sup>, H. Sunny Sun<sup>3</sup>, Chun-Pei Cheng<sup>4</sup>, Vincent S. Tseng<sup>4,5</sup>, Han-Shui Hsu<sup>6</sup>, Wu-Chou Su<sup>7</sup>, Wu-Wei Lai<sup>8</sup> and Yi-Ching Wang<sup>1,2,\*</sup>

- Oct4 pseudogene이 위암을 악성화시킨다는 논문

#### **ORIGINAL ARTICLE**

### **The *OCT4* pseudogene *POU5F1B* is amplified and promotes an aggressive phenotype in gastric cancer**

*Oncogene* (2015) **34**, 199-208

H Hayashi<sup>1,2</sup>, T Arai<sup>1</sup>, Y Togashi<sup>1</sup>, H Kato<sup>1</sup>, Y Fujita<sup>1</sup>, MA De Velasco<sup>1</sup>, H Kimura<sup>1</sup>, K Matsumoto<sup>1</sup>, K Tanaka<sup>2</sup>, I Okamoto<sup>2</sup>, A Ito<sup>3</sup>, Y Yamada<sup>4</sup>, K Nakagawa<sup>2</sup> and K Nishio<sup>1</sup>

- Oct4 가 head and neck squamous carcinoma의 줄기세포성을 핵심적으로 조절한다는 논문

#### **ORIGINAL ARTICLE**

### **Oct4 is a critical regulator of stemness in head and neck squamous carcinoma cells**

*Oncogene* (2015) **34**, 2317-2324

BS Koo<sup>1,7</sup>, SH Lee<sup>2,7</sup>, JM Kim<sup>3</sup>, S Huang<sup>3</sup>, SH Kim<sup>1</sup>, YS Rho<sup>4</sup>, WJ Bae<sup>5</sup>, HJ Kang<sup>6</sup>, YS Kim<sup>6</sup>, JH Moon<sup>6</sup> and YC Lim<sup>6</sup>

- Oct4 가 cervical cancer에서 암화를 촉진한다는 논문

### **OCT4 promotes tumorigenesis and inhibits apoptosis of cervical cancer cells by miR-125b/BAK1 pathway**

Y-D Wang<sup>1,3</sup>, N Cai<sup>1,3</sup>, X-L Wu<sup>1</sup>, H-Z Cao<sup>1</sup>, L-L Xie<sup>1</sup> and P-S Zheng<sup>1,2,\*</sup>

*Cell Death and Disease* (2013) **4**, e760;

○ Oct4의 기능 제어와 관련된 정보

- Lin28B/Let-7을 통해 Oct4의 발현을 조절할 수 있다는 논문

Tumor and Stem Cell Biology

Cancer Research

### Lin28B/Let-7 Regulates Expression of Oct4 and Sox2 and Reprograms Oral Squamous Cell Carcinoma Cells to a Stem-like State

Cancer Res; 75(12) June 15, 2015

Chian-Shiu Chien<sup>1</sup>, Mong-Lien Wang<sup>2,3</sup>, Pen-Yuan Chu<sup>4,5</sup>, Yuh-Lih Chang<sup>2,6</sup>, Wei-Hsiu Liu<sup>7</sup>, Cheng-Chia Yu<sup>8</sup>, Yuan-Tzu Lan<sup>3,6</sup>, Pin-I. Huang<sup>3,9</sup>, Yi-Yen Lee<sup>3,9</sup>, Yi-Wei Chen<sup>3,9</sup>, Wen-Liang Lo<sup>1,10</sup>, and Shih-Hwa Chiou<sup>2,3,4,6,11</sup>

- Zic이 Oct4 활성화에 관여한다는 논문

The Journal of Clinical Investigation

RESEARCH ARTICLE

### ZIC2-dependent OCT4 activation drives self-renewal of human liver cancer stem cells

October 2015

Pingping Zhu,<sup>1</sup> Yanying Wang,<sup>1</sup> Lei He,<sup>2</sup> Guanling Huang,<sup>1,3</sup> Ying Du,<sup>1</sup> Geng Zhang,<sup>1</sup> Xinlong Yan,<sup>1</sup> Pengyan Xia,<sup>1</sup> Buqing Ye,<sup>1</sup> Shuo Wang,<sup>1</sup> Lu Hao,<sup>1,3</sup> Jiayi Wu,<sup>1,3</sup> and Zusen Fan<sup>1,3</sup>

- Tryptophan derivatives가 Oct4 promoter에 결합하여 전사를 조절한다는 논문

ARTICLE

Received 27 Feb 2015 | Accepted 17 Apr 2015 | Published 10 Jun 2015

nature COMMUNICATIONS

### Tryptophan derivatives regulate the transcription of Oct4 in stem-like cancer cells

Jie Cheng<sup>1,2,\*</sup>, Wenxin Li<sup>1,\*</sup>, Bo Kang<sup>1,\*</sup>, Yanwen Zhou<sup>1,\*</sup>, Jiasheng Song<sup>3</sup>, Songsong Dan<sup>1</sup>, Ying Yang<sup>1</sup>, Xiaoqian Zhang<sup>1</sup>, Jingchao Li<sup>2</sup>, Shengyong Yin<sup>1,4</sup>, Hongcui Cao<sup>1</sup>, Hangping Yao<sup>1</sup>, Chenggang Zhu<sup>2</sup>, Wen Yi<sup>1,2</sup>, Qingwei Zhao<sup>1,5</sup>, Xiaowei Xu<sup>6</sup>, Min Zheng<sup>1</sup>, Shusen Zheng<sup>1,4</sup>, Lanjuan Li<sup>1</sup>, Binghui Shen<sup>7</sup> & Ying-Jie Wang<sup>1</sup>

- YAP이 Oct4 활성을 조절한다는 논문

### YAP1 Regulates OCT4 Activity and SOX2 Expression to Facilitate Self-renewal and Vascular Mimicry of Stem-like Cells

STEM CELLS

©AlphaMed Press 2014

Namrata Bora-Singhal<sup>1</sup>, Jonathan Nguyen<sup>1</sup>, Courtney Schaal<sup>1</sup>, Deepak Perumal<sup>5</sup>, Sandeep Singh<sup>6</sup>, Domenico Coppola<sup>2</sup> and Srikumar Chellappan<sup>1\*</sup>

- PKM2가 Oct4 전사활성에 영향을 준다는 논문

### Control of glioma cell death and differentiation by PKM2–Oct4 interaction

Citation: Cell Death and Disease (2014) |

M Morfouace<sup>1,2,5</sup>, L Lallier<sup>1,2,3</sup>, L Oliver<sup>1,2,4</sup>, M Cheray<sup>1,2</sup>, C Pecqueur<sup>1,2</sup>, P-F Cartron<sup>1,2</sup> and FM Vallette<sup>1,2,3</sup>

○ Oct4 PTM에 대한 정보

- Oct4 PTM이 Akt 신호 전달에 중요하다는 논문 : Oct4 T235번인산화와 K118 Sumoylation의 기능 및 중요성에 대한 연구 결과

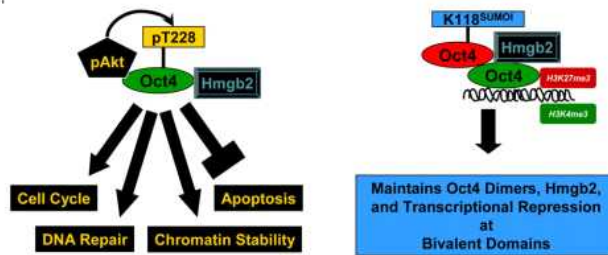
## STEM CELLS EMBRYONIC STEM CELLS/INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS

### Oct4 Interaction with Hmgb2 Regulates Akt Signaling and Pluripotency

PEARL A. CAMPBELL,<sup>a,b</sup> MICHAEL A. RUDNICKI<sup>a,b</sup>

STEM CELLS 2013;31:1107–1120

<sup>a</sup>Sprott Centre for Stem Cell Research, Ottawa Hospital Research Institute, Ottawa, Ontario, Canada; <sup>b</sup>Department of Cellular and Molecular Medicine, University of Ottawa, Ottawa, Ontario, Canada



- Oct4 인산화가 zebrafish 발생과정에서 중요한 역할을 한다는 논문으로 구체적인 인산화 위치에 대한 연구 결과는 없지만, 전반적으로 Oct4 인산화의 중요성을 개체수준에서 보인 논문

## Pou5f1 Protein Expression and Posttranslational Modification During Early Zebrafish Development

Bernadette Lippok,<sup>1</sup> Sungmin Song,<sup>1</sup> and Wolfram Driever<sup>1,2\*</sup>

DEVELOPMENTAL DYNAMICS 243:468–477, 2014

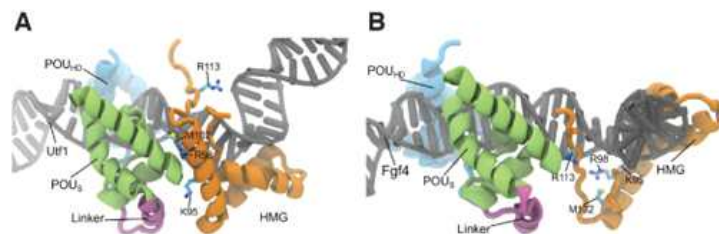
- Oct4-SOX2 configuration이 줄기세포성에 중요함. 특정 Oct4 PTM이 이 configuration 조절할 가능성.

## SCIENTIFIC REPORTS

Published: 28 August 2015

### Dissecting the role of distinct OCT<sub>4</sub>-SOX<sub>2</sub> heterodimer configurations in pluripotency

Natalia Tapia<sup>1,2</sup>, Caitlin MacCarthy<sup>2</sup>, Daniel Esch<sup>2</sup>, Adele Gabriele Marthaler<sup>2</sup>, Ulf Tiemann<sup>1</sup>, Marcos J. Araúzo-Bravo<sup>3,4</sup>, Ralf Jauch<sup>5,6</sup>, Vlad Cojocaru<sup>2</sup> & Hans R. Schöler<sup>2</sup>



## 7. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문 /특허 /기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	논문	Modulation of lysine methylation in myocyte enhancer factor 2 during skeletal muscle cell differentiation.	국립암센터	참여저자	<i>Nucleic Acids Research</i>	8.808	2014.01.01		
2	논문	ATP-citrate lyase regulates cellular senescence via an AMPK- and p53-dependent pathway.	국립암센터	참여저자	<i>FEBS Journal</i>	4.001	2015.01.01		
3	논문	AKT phosphorylates H3-threonine 45 to facilitate termination of gene transcription in response to DNA damage.	국립암센터	참여저자	<i>Nucleic Acids Research</i>	9.112	2015.05.19		NAR Breakthrough Article 선정
4	논문	Pontin Functions as an Essential Coactivator for Oct4-Dependent LincRNA expression in Mouse Embryonic Stem Cells.	국립암센터	참여저자	<i>Nature Communications</i>	11.470	2015.04.10		
5	논문	Ctbp2 Modulates NuRD-Mediated Deacetylation of H3K27 and Facilitates PRC2-Mediated H3K27me3 in Active ESC Genes During Exit From Pluripotency.	국립암센터	참여저자	<i>Stem Cells</i>	6.523	2015.08.01		
6	논문	Core Pluripotency Factors Directly Regulate Metabolism in Embryonic Stem Cell to Maintain Pluripotency.	국립암센터	제1저자	<i>Stem Cells</i>	6.523	2015.09.01	중복사사	
7	기타	생화학분자생물학회 학회지 Experimental & Molecular Medicine (EMM) IF = 3.446 편집 실무위원 (Associate editor) 2014.01.01. ~ 현재 총 20편 review 및 최종 accept 여부 의견 제시							

## 8. 참여연구원 현황

번호	소속기관명	직위	생년월일	전공 및 학위		연구담당 분야
	성명	과학 기술인등록 번호	성별	취득 년도	학위 (전공)	과제참여 기간
	국립암센터 장현철					

## 9. 기타사항

없음.

## 10. 참고문헌

- Beltran, A. S., Rivenbark, A. G., Richardson, B. T., Yuan, X., Quian, H., Hunt, J. P., Zimmerman, E., Graves, L. M., and Blancafort, P. (2011). Generation of tumor-initiating cells by exogenous delivery of OCT4 transcription factor. *Breast cancer research : BCR* 13, R94.
- Brumbaugh, J., Hou, Z., Russell, J. D., Howden, S. E., Yu, P., Ledvina, A. R., Coon, J. J., and Thomson, J. A. (2012). Phosphorylation regulates human OCT4. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109, 7162-7168.
- Campbell, P. A., and Rudnicki, M. A. (2013). Oct4 interaction with Hmgb2 regulates Akt signaling and pluripotency. *Stem cells* 31, 1107-1120.
- Hu, T., Liu, S., Breiter, D. R., Wang, F., Tang, Y., and Sun, S. (2008). Octamer 4 small interfering RNA results in cancer stem cell-like cell apoptosis. *Cancer research* 68, 6533-6540.
- Jang, H., Kim, T. W., Yoon, S., Choi, S. Y., Kang, T. W., Kim, S. Y., Kwon, Y. W., Cho, E. J., and Youn, H. D. (2012). O-GlcNAc regulates pluripotency and reprogramming by directly acting on core components of the pluripotency network. *Cell stem cell* 11, 62-74.
- Kim, H., Jang, H., Kim, T. W., Kang, B. H., Lee, S. E., Jeon, Y. K., Chung, D. H., Choi, J., Shin, J., Cho, E. J., and Youn, H. D. (2015). Core Pluripotency Factors Directly Regulate Metabolism in Embryonic Stem Cell to Maintain Pluripotency. *Stem cells* 33, 2699-2711.
- Kohno, K., Uchiumi, T., Niina, I., Wakasugi, T., Igarashi, T., Momii, Y., Yoshida, T., Matsuo, K., Miyamoto, N., and Izumi, H. (2005). Transcription factors and drug resistance. *European journal of cancer* 41, 2577-2586.
- Lippok, B., Song, S., and Driever, W. (2014). Pou5f1 protein expression and posttranslational modification during early zebrafish development. *Dev Dyn* 243, 468-477.
- Noh, K. H., Kim, B. W., Song, K. H., Cho, H., Lee, Y. H., Kim, J. H., Chung, J. Y., Kim, J. H., Hewitt, S. M., Seong, S. Y., *et al.* (2012). Nanog signaling in cancer promotes stem-like phenotype and immune evasion. *The Journal of clinical investigation* 122, 4077-4093.

Spelat, R., Ferro, F., and Curcio, F. (2012). Serine 111 phosphorylation regulates OCT4A protein subcellular distribution and degradation. *The Journal of biological chemistry* 287, 38279-38288.

Takashima, Y., Guo, G., Loos, R., Nichols, J., Ficz, G., Krueger, F., Oxley, D., Santos, F., Clarke, J., Mansfield, W., *et al.* (2014). Resetting transcription factor control circuitry toward ground-state pluripotency in human. *Cell* 158, 1254-1269.

Tapia, N., MacCarthy, C., Esch, D., Gabriele Marthaler, A., Tiemann, U., Arauzo-Bravo, M. J., Jauch, R., Cojocaru, V., and Scholer, H. R. (2015). Dissecting the role of distinct OCT4-SOX2 heterodimer configurations in pluripotency. *Scientific reports* 5, 13533.

Wang, X. Q., Ongkeko, W. M., Chen, L., Yang, Z. F., Lu, P., Chen, K. K., Lopez, J. P., Poon, R. T., and Fan, S. T. (2010). Octamer 4 (Oct4) mediates chemotherapeutic drug resistance in liver cancer cells through a potential Oct4-AKT-ATP-binding cassette G2 pathway. *Hepatology* 52, 528-539.

Zhang, J., Li, Y. L., Zhou, C. Y., Hu, Y. T., and Chen, H. Z. (2010). Expression of octamer-4 in serous and mucinous ovarian carcinoma. *Journal of clinical pathology* 63, 879-883.

Zhou, B. B., Zhang, H., Damelin, M., Geles, K. G., Grindley, J. C., and Dirks, P. B. (2009). Tumour-initiating cells: challenges and opportunities for anticancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 8, 806-823.



<별첨작성 양식>

[별첨]

## 자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호		1310880	
사업구분	기관고유연구사업				
연구분야	B-1			과제구분	단위
사업명	기관고유연구사업				주관
총괄과제	암 치료를 위한 Oct4 기능 조절 연구			총괄책임자	장현철
과제명	암 치료를 위한 Oct4 기능 조절 연구			과제유형	기초
연구기관	국립암센터			연구책임자	장현철
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	연구비	민간	계
	1차년도	'13.06~'13.12	100,000		100,000
	2차년도	'14.01~14.12	100,000		100,000
	3차년도	'15.01~15.12	120,000		120,000
	계	'13.06~'15.12	320,000		320,000
참여기업					
상대국		상대국연구기관			

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2015.10. 28

3. 평가자(과제책임자) :

소속	직위	성명
분자종양학연구과	선임연구원	장현철

4. 평가자(과제책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	장현철
----	-----

## I. 연구개발실적

※ 다음 각 평가항목에 따라 자체평가한 등급 및 실적을 간략하게 기술(200자 이내)

### 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수)

Oct4가 줄기세포의 물질대사를 직접 조절하고, 이 조절이 잘못되면 줄기세포가 암세포로 변할 수 있다는 연구 결과는 세계 최초의 보고로 줄기세포 분야 ranking 2위, oncology 분야 상위 10%인 stem cells 지에 게재됨

Oct4의 기능을 조절할 수 있는 PTM에 대한 연구결과는 biology 분야 상위 3.5%인 eLIFE지에 2016년 2월 게재됨. 본 연구 결과는 세계최초의 독창적인 연구 결과로 향후 이분야 연구를 선도할 것으로 생각함

### 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수)

암 에서 Oct4의 역할에 대한 연구는 전세계적으로 hot한 이슈임 (2015.10.26.현재 Pubmed에서 Oct4=Cancer 로 검색하면, 2015년도 발표된 논문만 195편임.) Oct4에 의한 해당과정조절과 암화와의 관련을 연구하여 stem cells 지에 실린 논문 및 Oct4 229 인산화를 연구하여 eLIFE지에 게재된 연구 결과는 세계최초의 독창적인 연구 결과로 향후 이 분야 연구를 선도할 것으로 생각함.

### 3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수)

추가적인 연구를 통해 S229 탈인산화 효소 저해를 통한 암에서 Oct4 기능 조절 혹은 X01위치의 인산화 조절 기전 연구 및 인산화 저해를 통한 암에서 Oct4기능 조절을 가능하게 하는 drug이 개발되면 줄기 세포성을 지닌 암세포를 죽임으로써, 암 재발을 막아 실질적인 암 사망자수를 줄이는 데 큰 공헌을 할 것으로 생각함

### 4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수)

본 연구 책임자는 당초 계획했던 연구를 모두 진행했을 뿐만 아니라 연구 진행중 발견된 추가적인 현상에 대한 연구도 일정부분 진행하였습니다. 연구과정에서 수많은 cloning, mutagenesis, 10곳 이상의 PTM의 생리학적 중요성 연구, CHIP, real-time PCR, FACS, confocal microscopy 등 현재 알려진 모든 실험방법들을 총 동원하여 연구진행에 매진했다고 자부합니다.

### 5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (우수)

본 연구 결과의 일부는 stem cell 분야 ranking 2위, Oncology 분야 상위 10% 에 해당하는 stem cells 지에 게재되었고, 또 다른 일부는 Biology 분야 상위 3.5%에 해당하는 eLIFE지에 게재됨.

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
암 세포주들에서 Oct4 발현정도 및 항암제 내성 정도 파악	10	100%	난소암 7종, 폐암 8종의 세포주에 대해 Oct4의 발현 정도 및 cisplatin 내성 정도를 확인함
항암제 내성 암세포에서 Oct4의 역할 연구	10	100%	항암제 내성을 띤 세포의 생존, 성장에 Oct4가 중요한 역할을 함을 확인함
Oct4에 의한 물질대사 조절 기전 연구	20	100%	Oct4가 Hk2, Pkm2를 직접 조절함을 밝힘. <b>stem cells 지 게재</b>
암 발생과정에서 Oct4-물질대사의 역할 연구	10	100%	Oct4-물질대사가 배아줄기세포 분화 과정에서 immortality 유지와 관계됨을 밝힘
Oct4 기능에 필수적인 PTM들 선별	20	100%	기능에 중요한 PTM을 최소4개 확인함
1건 이상 PTM의 작용 기전 규명	10	100%	1건에 대해 작용기전을 규명하여 논문 제출, <b>eLIFE지 게재</b>
1건 이상 PTM의 유발/제거 인자 규명	10	100%	1건에 대해 PTM 유발/제거 인자 규명함
Oct4 PTM dysregulation이 암세포에 미치는 영향 규명	10	100%	1건에 대해 Oct4 PTM dysregulation이 암세포에서도 중요한 역할을 함을 밝힘
합계	100점	100%	

## III. 종합의견

### 1. 연구개발결과에 대한 종합의견

본 연구는 암환자의 표준치료에 대한 내성을 극복하고, 암 재발을 막기 위해 암의 줄기세포성을 이용하는 연구 임.

우리 기관이 추구하는 Precision medicine에서도 실질적인 암 사망자 수를 줄이기 위해서는 암 환자들 마다의 암줄기세포가 의존하는 개개의 줄기세포 네트워크를 알고, 이를 조절하는 연구가 필요하다고 생각함.

본 연구는 줄기세포 네트워크를 구성하는 핵심인자인 Oct4에 대한 연구로 향후 심화된 연구 및 다른 줄기세포 핵심인자에 대한 연구로 연구가 확장될 필요가 있음.

### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

본 연구 분야는 논문 processing 시간이 매우 오래 걸립니다. (예를 들어 stem cells에 게재된 ctbp관련 논문은 2003년 5월에 처음 논문 투고가 되었으나 2015년에 비로소 게재 승인되었습니다.)

최종 논문으로 accept 되기까지 시일이 많이 걸리는 관계로, 현재 발표된 정량적 결과 외에 미 발표된 결과를 충분히 고려해 주시길 부탁드립니다.

### 3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

본 연구를 통해 상세 기전 및 관련 효소를 모두 확인한 Oct4 S229 인산화의 경우 해당 탈인산화 효소 저해를 통한 Oct4 기능 조절을 암 치료에 어떻게 이용할 수 있는 지에 대한 추가 연구가 필요하다고 생각합니다.

또한 현재 연구 중인 X01위치의 인산화의 경우 S229 인산화와 유사하게 상세 기전을 밝히고 관련 효소를 동정하며, 암 치료에 이용할 수 있는 항체 혹은 small molecule 등의 개발관련 연구를 추가로 진행할 필요가 있다고 생각합니다.

## IV. 보안성 검토

### 1. 연구책임자의 의견

### 2. 연구기관 자체의 검토결과