

최종보고서 [기관고유연구사업]

과제고유번호	1410910	연구분야 (코드)		지원 프로그램	창의	공개가능여부 (공개, 비공개)	공개
연구사업명	국립암센터 기관고유연구사업						
연구과제명	환취 부분 간절제 모델에서 간재생에 영향을 주는 약물에 대한 연구						
과제책임자	성명	이승덕	소속	간암센터	직위	의사	
세부과제	구분	과제명			과제책임자		
		성명	소속(직위)		전공		
	(1세부)						
	(2세부)						
	(3세부)						
총연구기간	2014년 5월~ 2016년 12월 (총 1년 6개월)	해당단계 참여 연구원 수	총: 5명 내부: 4명 외부: 1명	연구개발비	연구비: 63,000 천원 민간: 천원 계: 63,000천원		
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 5명 내부: 4명 외부: 1명		총연구개발비	연구비: 113,000 천원 민간: 천원 계: 113,000 천원	
연구기간 및 연구비 (단위: 천원)	구분	연구기간	계	국립암센터	기업부담금		
					소계	현금	현물
	계	2014.5.1.~2015. 12.31	113,000	113,000			
	제1차	2014.5.1.~2014. 12.31	50,000	50,000			
	제2차	2015.1.1.~2015. 12.31	63,000	63,000			
	제3차	~					
참여기업	참여기업명 :						
국제공동연구	상대국명:				상대국 연구기관명:		
위탁연구	연구기관명:				연구책임자:		

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

년 월 일

과제책임자 : 이승덕 (인)

국립암센터원장 귀하

< 국문 요약문 >

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p><최종목표> 쥐 간절제 모델을 만들어 small-for-size의 기전을 규명하고 간 재생에 효과가 있다고 알려진 약제(stem cell factor, granulocyte macrophage colony-stimulating factor, granulocyte colony-stimulating factor, EPO 등)를 in-vivo로 투여하여 효과를 규명함.</p> <p>1) 80%, 90%, 95% rat hepatectomy model 확립 - 종류 : Spraque Dawley rat (male, 200-250g, 7 weeks) - partial hepatectomy : under general anesthesia (isoflurane, NO2, O2) and Ligation technique (Higgins GM, Arch Path., 1931;12:186)</p> <p>2) 간재생 mechanism - Liver remodelling : IL-6, TGF-β (수술 후 2, 4, 8, 24 hr) - Liver regeneration : Liver weight recovery ratio, PCNA test (수술 후 2,5,7일) - Liver sample : SCF, GM-CSF, G-CSF, EPO mRNA expression, S100A4 mRNA expression, cell cycle (cyclin D1, cdk1, cdk2) - Serum parameter: AST, ALT, Total bilirubin (수술 후 2, 5 7일) - MTS assay for combination effect - SDF-1, CXCL-12, MMP-2, MMP-9</p>																
<p>연구개발성과</p>	<p><정량적 성과¹⁾></p> <table border="1" data-bbox="462 1142 1396 1288"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>달성치/목표치¹⁾</th> <th>달성도(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SCI 논문 편수</td> <td>5/1</td> <td></td> </tr> <tr> <td>IF 합</td> <td>10.85/3</td> <td></td> </tr> <tr> <td>기타 성과</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>1) 총연구기간 내 목표연구성과로 기 제출한 값</p> <p><정성적 성과> -주요연구성과를 개조식으로 간단히 작성(5줄 이내) 간절제 및 혈관수술에 가장 중요하고 필수적인 미세수술 기법 습득 -임상에 적용하여 효과를 입증함으로써 간절제 결과의 향상</p>					구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)	SCI 논문 편수	5/1		IF 합	10.85/3		기타 성과		
구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)															
SCI 논문 편수	5/1																
IF 합	10.85/3																
기타 성과																	
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<p>임상에서 문제되는 작은 이식편 문제에서 이를 개선할 수 있는 약물을 발견하여 임상 에 활용할 수 있는 기초 자료로 활용함.</p>																
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>흰쥐</p>	<p>간절제</p>	<p>간재생</p>	<p>줄기세포인자</p>	<p>집락자극인자</p>												

< 영문 요약문 >

< SUMMARY >

Purpose& Contents	<p>To establish extreme rat hepatectomy model and elucidate the mechanism of small-for-size syndrome.</p> <p>To find the possible role of in-vivo administration of combined SCF and GM-CSF in 90% partial hepatectomy model with new portal pedicle ligation saving bile duct technique</p>				
Results	<p>Survivals after 90% hepatectomy using this technique were increased to 95% compared with 55% with conventional ligation technique ($p = 0.004$). Group 2 showed significantly increased liver regeneration index at postoperative day 2 and 4 compared to group 1 (287.5 ± 19.6 vs. 513.9 ± 67.1, $p = 0.025$ at day 2; 647.6 ± 108.8 vs. 941.7 ± 53.9, $p = 0.046$). Serum liver function test including total bilirubin, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase in group 2 were significantly lower than those in group 1 on postoperative day 1. The expression number of Ki-67 in immunohistochemistry was significantly high in group 2 compared to that in group 1 on postoperative day 4 (343.3 ± 35.4 vs. 535.7 ± 56.4, $p = 0.045$). Group 2 showed a significant increase of IL-6 and TGF-β within 24 hours after hepatectomy. Furthermore, CXCL12/CXCR4 and MMP-2,9 of liver tissue in group 2 were also significantly up-regulated by quantitative PCR on postoperative days.</p>				
Expected Contribution	<p>Based on this results, we could use the SCF and GM-CSF in patients with small-for-size syndrome such as conditions of post-hepatectomy or post-liver transplantation.</p>				
Keywords	rat	hepatectomy	liver regeneration	stem cell factor	colony-stimula ting factor

< 목 차 >

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

<별첨> 자체평가의견서

※ 여러개의 세부과제로 과제가 구성된 경우 위 목차와 동일하게 세부과제별로 작성함

(I. 총괄과제, II. 제1세부과제, III. 제2세부과제.....)

1. 연구개발과제의 개요

1-1 연구 개발 필요성 및 목적

간이식은 말기 간질환의 가장 효과적인 치료법이다. 간이식은 사체 간이식에서 시작되어, 뇌사자의 공여 부족으로 생체 간이식에 이르렀다(Tanaka와 Kiuchi, 2002). 이제는 소아에서 뿐만 아니라 성인 대 성인 생체 부분 간이식이 보편화되어 가고 있다. 특히 서양에 비해 사체 간이식이 부족한 우리 나라에서는, 잠재 수여자(가)가 간이식 대기 중에 사망하는 예가 빈번하여(국립장기이식관리센터, 2002), 생체 부분 간이식에 대한 논의가 활발하다. 생체 부분 간이식 초기에는 성인 수여자에게 공여자의 좌엽을 이식편으로 사용하였다. 그러나 소아 수여자와는 달리 체격이 큰 수여자에서 이식간의 용적이 부족하여 대사 요구량을 충족시키지 못하는 경우가 있다.

작은 이식편을 사용한 경우 특징적으로 문맥 혈류량이 과도하게 증가하고 문맥압이 항진되는 것이 이러한 기전의 하나이다(Boillot 등, 2002). 즉, 적은 용적의 이식편에 대하여 단위 조직당 혈류량이 증가하게 되므로, 정상적인 문맥 혈류에서도 문맥압이 항진된다. 이러한 문맥압 항진은 간 울혈을 일으키고, 간세포를 괴사시키며, 간 재생에 방해 요인으로 작용한다. 궁극적으로 간이식의 성적에 좋지 않은 영향을 미친다(Yanaga 등, 1995; Man 등, 2001; Shimamura 등, 2001). 역으로, 성인 생체 부분 간이식 중 문맥압을 조절하여 정상 수준으로 유지하면, 이식편과 환자의 생존율을 증가시킨다는 보고도 있다(Ito 등, 2003). 따라서 최근에는 충분한 용적의 이식편을 얻기 위해서 공여자의 우엽을 이식편으로 점점 더 이용하고 있다(Marcos, 2000). 그러나 생체 부분 간이식에서는 공여자의 안전성이 가장 중요하다. 아직 우엽을 이용한 공여자의 안전성에 대해서는 논란이 있다. 이식편을 많이 절제할수록 공여자의 안전성은 침해된다(Renz와 Busuttill, 2000; Trotter 등, 2002). 따라서 공여자에게 부담이 적은 좌엽이나 그 이하의 간 절제를 하여 수술 범위를 늘이지 않고 적은 용적의 간을 사용하고, 동시에 수여자의 성적에 영향을 미치지 않는 방법을 모색해야 한다.

간은 태생기가 아니어도 재생이 가능한 장기이다(Tomiya 등, 1998). 생체 부분 간이식 후 간의 재생 속도는 간이식의 성적을 좌우한다. 이식편의 용적이 적더라도 재생이 충분히 빨리 일어나 이식 초기에 요구되는 대사량을 만족시킬 수 있다면, 적은 용적의 이식편을 이용해도 이식의 성적이 향상될 것이다. 또한, 간암 및 간전이로 인해 대량 간절제가 필요한 환자들이 있다. 이들도 수술적 절제후 작은 간으로 인해 small-for-size syndrome을 겪게 된다. 이는 먼저 설명한 문맥 혈류량의 과도한 부하로 인해 간세포의 파괴를 야기하여 간기능 저하 및 복수형성으로 증상을 나타낸다. 대개 Prothrombin time INR 2.0 이상, Total bilirubin 100umol 이상, 간성 혼수가 있을 때 진단할 수 있으며 이로 인해 간부전 및 사망을 초래하게 된다.

이런 작은 간과 이식편을 가진 환자들을 위한 약제에 대한 연구는 꾸준히 되어 오고 있으나, 아직 뚜렷한 결과를 내지 못하고 있는 실정이다. 하지만, 최근에 간재생을 촉진시키고 효과를 보인 약제들이 나오고 있다. Fanyin Meng 등 (hepatology 2012;55:209-221)은 stem cell factor 와 GM-CSF를 in-vitro rat의 cholangiocyte 재생에 synergic effect가 있음을 보여주었다. 간재생동안 복잡한 inflammatory signaling 과 간담세포 분화, 증식, 및 혈관의 형성이 뒤따른다. 이런 간의 remodeling 과정동안 여러 cytokine들이 관여를 하게 되는데 알려진 것으로는 stem cell factor, erythropoietin, granulocyte colony-stimulating factor, granulocyte macrophage colony-stimulating factor 등이 있다. 이러한 cytokine들은 피속의 적혈구, 백혈구 및 혈소판의 골수 생성을 조절하는 것으로 알려져 있다. 특히, SCF는 CD34-양성 stem cell의 분화를 촉진시키며, 나머지 EPO, G-CSF, GM-CSF는 좀더 분화된 세포들의 합성을 조절하는 것으로 알려져 있다. Colony-stimulating factor는 혈관 내피 세포의 직접적 효과와 neutrophil의 recruitment와 activation을 통해서 간의 염증반응에 관여하는 것으로 알려져 있고, 이로 인해 간세포의 회복과 재생에 영향을 주는 것으로 알려져 있다.

이에 본 연구에서는 SD rat을 이용하여 small-for-size model인 80% 이상 hepatectomy 모델을 확립할 예정이다. rat을 이용한 hepatectomy 모델은 이미 다양한 간절제가 비교적 쉽게 가능하여 간재생 및 작은 이식편 모델로서 많은 실험이 이루어져 있다 (marginal hepatectomy in the rat, Annals of surgery, July 2006). 본 연구에서도 caudate lobe과 right inferior lobe을 남기는 80% hepatectomy를 시행하여 작은 간 및 이식편 모델을 만들 예정이다. 또한, 최근 in-vitro 연구를 통해 간 재생에 synergic effect를 보인 SCF와 GM-CSF를 동시에 in-vivo로 80% hepatectomy rat에게 투여하여 그 효과를 확인할 것이다. 이 약제를 투여후 간재생에 중요한 역할을 하는 S100A4, IL-6, TGF- β 등의 수치를 확인하여 작용 기전을 확인할 것이다.

2. 국내외 기술개발 현황

가. 외국 현황

- 작은 용적의 간이 재생되는데 필요한 적절한 약물 개발은 현재 세계적 화두이며 이에 대한 단편적인 in vitro 연구들은 나와 있으나 실제로 in vivo 약물을 투입하여 liver regeneration을 밝힌 논문은 아직 없는 상황이다. 본 연구에서는 다양한 간절제 모델을 통해 최적의 부분 간절제 모델을 확인하고, 이에 liver remodeling에 관여하는 cytokine 과 protein을 확인, in vivo 상태에서 약물을 투입하여 liver regeneration을 확인할 것이다. 따라서, 경쟁도 심하여 시급한 연구의 실행이 요구됨
- 쥐절제 모델은 타동물 간절제에 비해 적은 비용과 다루기 용이함의 장점이 있어 간절제 후 결과를 향상시키려는 노력의 일환으로 많이 연구에 이용되고 있음

나. 국내 현황

- 쥐간절제를 시행하는데에는 기술과 노력이 필요하므로 현재 국내의 연구 보고는 미약한 상태이다.
- 이 연구 분야는 과학의 선진국들에서도 불과 몇 년 전에 시작되어 최근에 활발한 연구가 진행되는 관계로 국내는 불모지에 가까운 실정임
- 국내에서도 적절한 약물 사용으로 인한 간재생에 도움이 되는 약물 개발이 시급한 상황이다.

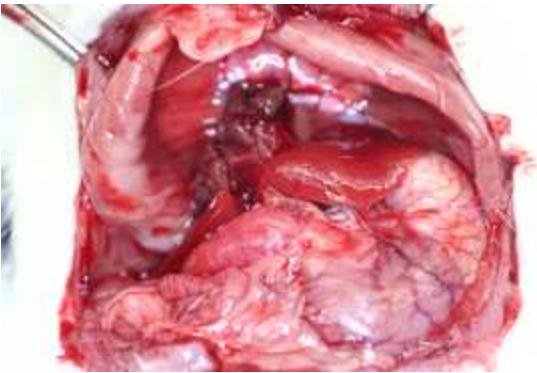
3. 연구수행 내용 및 결과

(1) 쥐 부분 간절제 모델 확립

1. 80% Model 확립

(a) 방법 : 쥐의 right inferior lobe과 2개의 caudate lobe을 남기고 모든 간조직을 절제, ligation technique을 사용함

(b) 결과 : 초기에는 인대 박리 및 간절제술 중 숙련도 미숙으로 과다 출혈로 사망하거나 횡격막 천공으로 사망하는 경우가 많았음. ligation technique로 숙련도를 습득하여 초기 50마리 수술후 일주일 생존율 80% 달성



(80% 간절제 Model)



(80% 간절제 일주일후)

2. 90% Model 확립

(a) 방법 : Bile duct saving hilar ligation technique 개발하여 사용, 현미경하에서 각 lobe으로 가는 문맥을 확인하여 담도와 간동맥, 간문맥을 박리후 caudate로 가는 간동맥, 간문맥만을 남긴후 나머지 간동맥, 간문맥은 ligation시행함. 이때 bile duct는 남겨 놓아 남아 있는 간에서의 담도 배출 용이 및 간증대로 인한 문맥 구조물 협착을 예방함

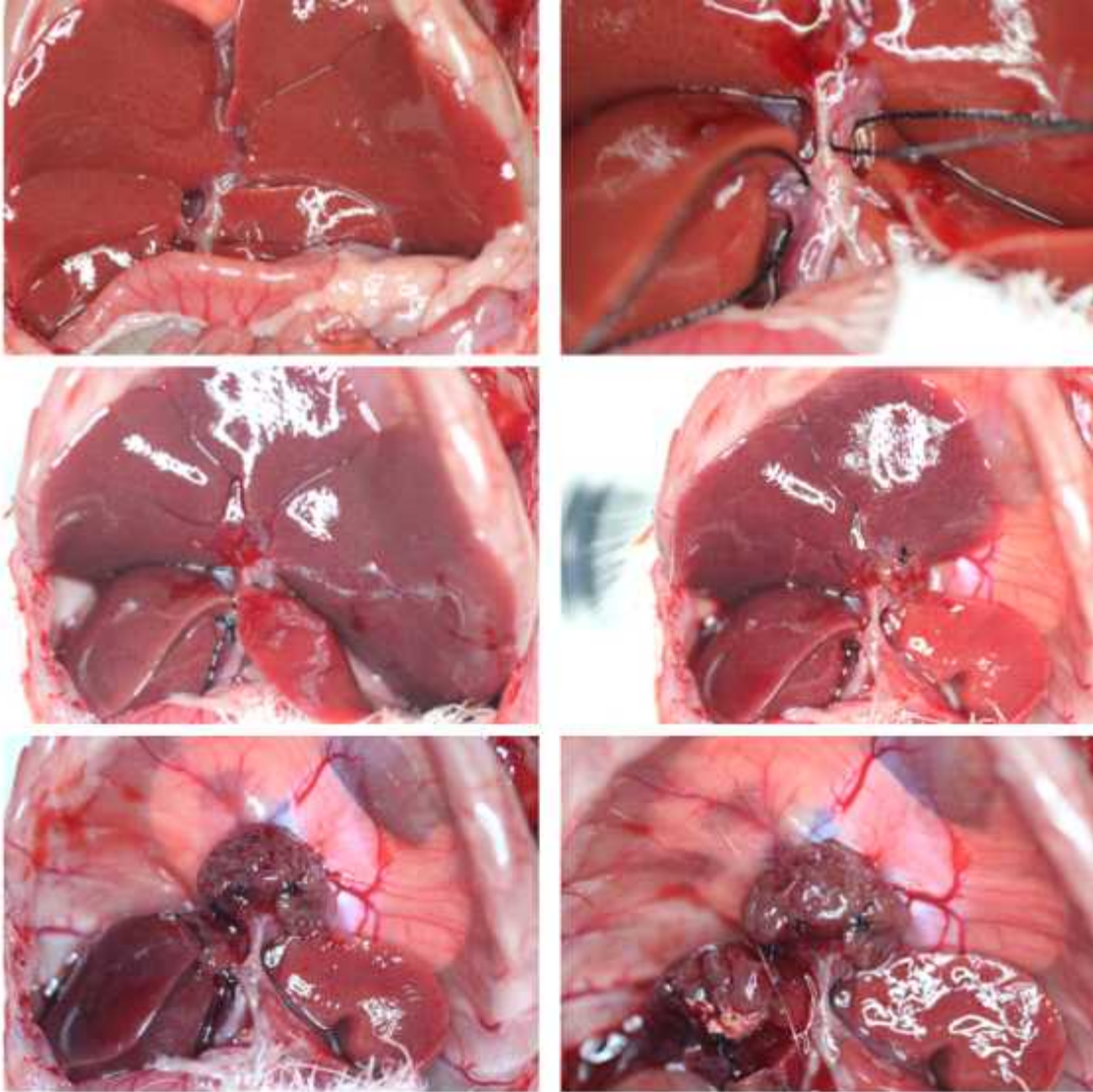


Fig. 1. The 90% partial hepatectomy (PH) was performed to dissect hilum under microscopy and divide bile duct and portal vein/hepatic artery pedicle entering median/left lateral lobe and right lateral lobe. The pedicles of the lobes were divided into two to three parts and ligated by piercing before the lobes were resected.

(b) 일반 lobe ligation technique로 시행하였을시 생존율이 현저히 낮음 50% 전후. 상기 방법을 개발하였을시 90% rat hepatectomy model에서 95% 이상의 생존율을 얻게 됨.

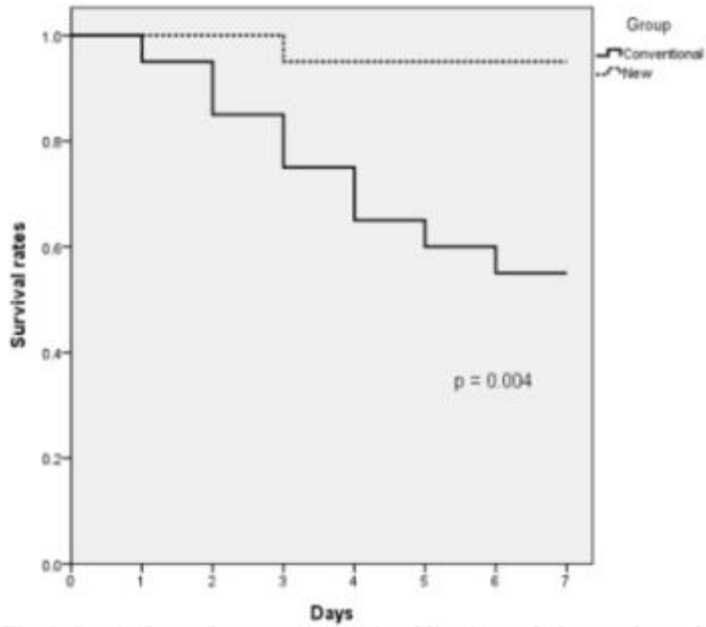


Fig. 3. Survival rates between conventional ligation technique and portal pedicle ligation technique saving bile duct under microscopy. (7-day survival rate : 95% vs. 55%, $p = 0.004$)

c) 약물 주입

90% partial hepatectomy 시행후, control 그룹은 PBS, experiment 그룹은 SCF+GM-CSF (25mcg/kg) 을 infrahepatic IVC (inferior vena cava)에 direct 하게 주입함.

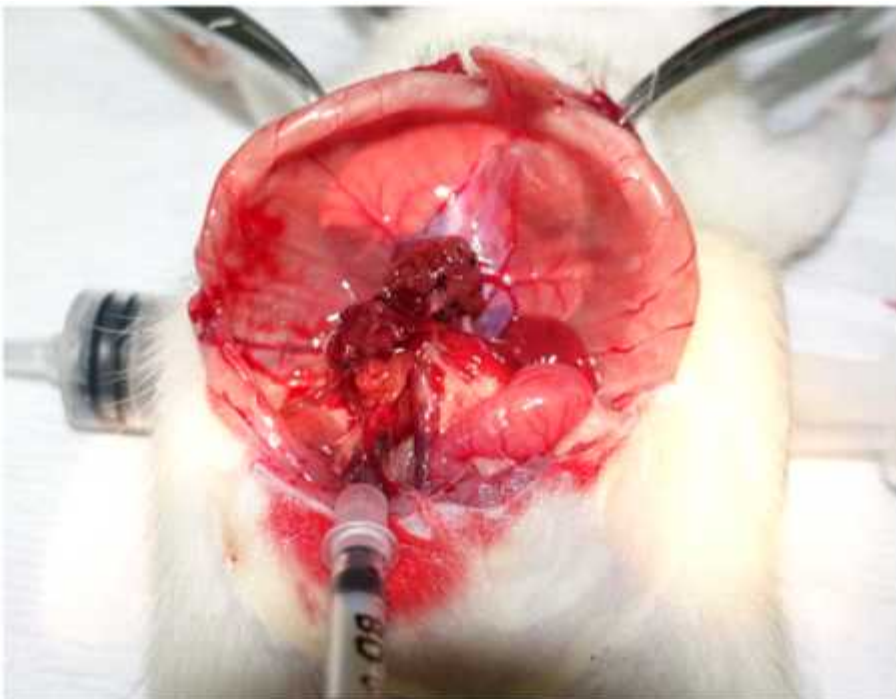


Fig. 2. PBS (0.2 ml) or PBS with SCF+GM-CSF (25mcg/kg, each) was administrated directly into inferior vena cava immediately after 90% PH.

(2) 약물 주입을 통한 간재생 확인 및 mechanism 분석

1. MTS assay for combination effect of SCF and GM-CSF

- Hep3B 와 SNU 449 cell line을 사용하여 in-vitro culture 상에서 SCF 와 GM-CSF동시 투여의 synergistic 효과를 확인함.

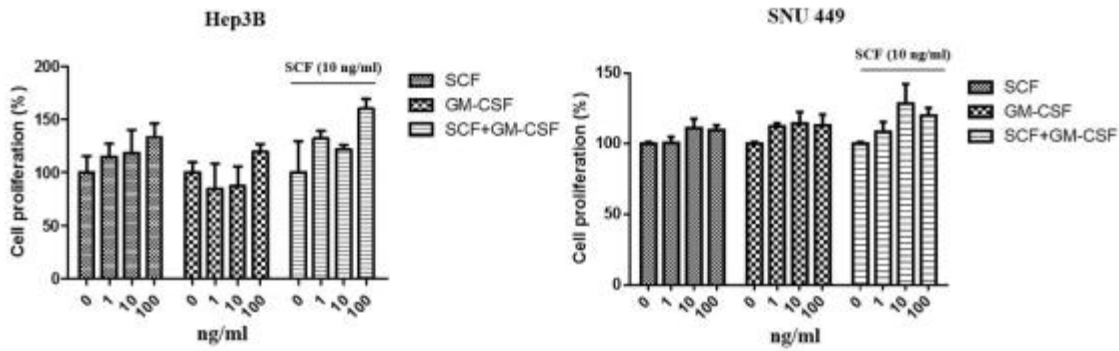


Fig. 4. MTS assay in in-vitro cell line of Hep3B and SNU449 using SCF, GM-CSF, and combination of SCF and GM-CSF.

2. Increased liver regeneration in volume and liver function test

- The liver regeneration index was statistically significantly increased in SCF+GM-CSF group at postoperative day 2 and 4 (287.5 ± 19.6 vs. 513.9 ± 67.1 , $p = 0.025$ at day 2; 647.6 ± 108.8 vs. 941.7 ± 53.9 , $p = 0.046$ at day 4; Fig. 6).

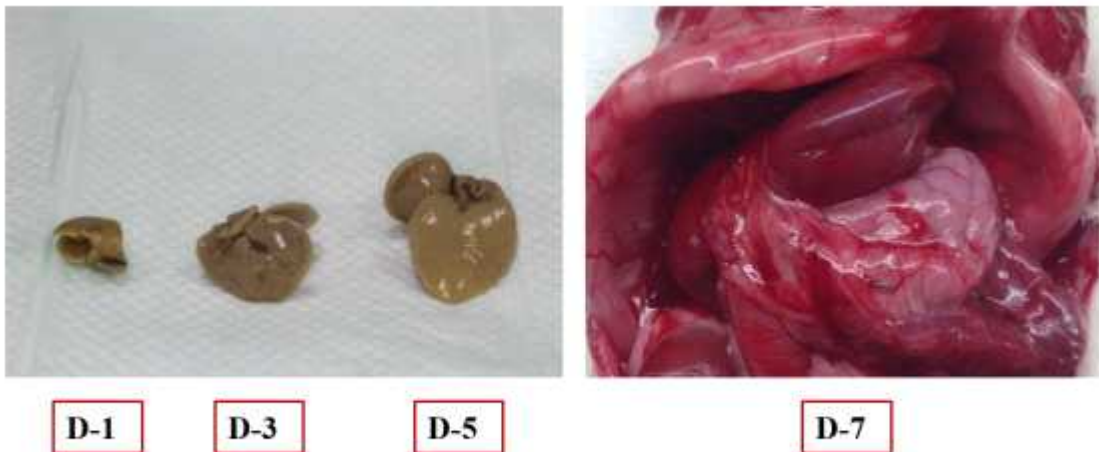


Fig. 5. The liver volume after 90% PH was increased rapidly, and then original liver volume was restored until postoperative day 7.

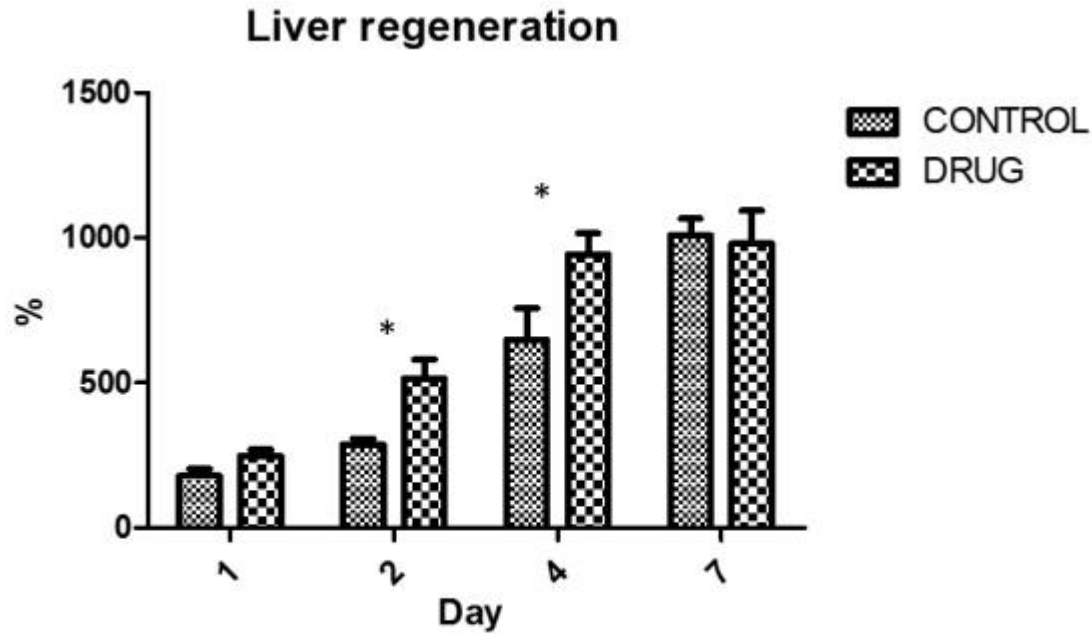


Fig. 6. The liver regeneration index was statistically significantly increased in SCF+GM-CSF group at postoperative day 2 and 4 (287.5 ± 19.6 vs. 513.9 ± 67.1 , $p = 0.025$ at day 2; 647.6 ± 108.8 vs. 941.7 ± 53.9 , $p = 0.046$ at day 4)

- The liver function test including total bilirubin, AST, and ALT at preoperative status, postoperative day 1, 2, 4, and 7 was performed between control and SCF+GM-CSF group (Fig. 7). For total bilirubin, the level at postoperative day 1 was significantly different between two groups (2.96 ± 0.16 vs. 1.32 ± 0.24 , $p < 0.001$). For the level of AST, SCF+GM-CSF group showed statistically significant low level at postoperative day 1 compared with control group. (2970.0 ± 111.6 vs. 1724.0 ± 59.4 , $p < 0.001$). Regarding the level of ALT, SCF+GM-CSF group showed statistically significant low level at postoperative day 2 and 4 compared with control group (Day 2, 308.0 ± 73.6 vs. 131.2 ± 3.9 , $p = 0.037$; Day 4, 180.2 ± 18.9 vs. 104.0 ± 10.7 , $p = 0.006$).

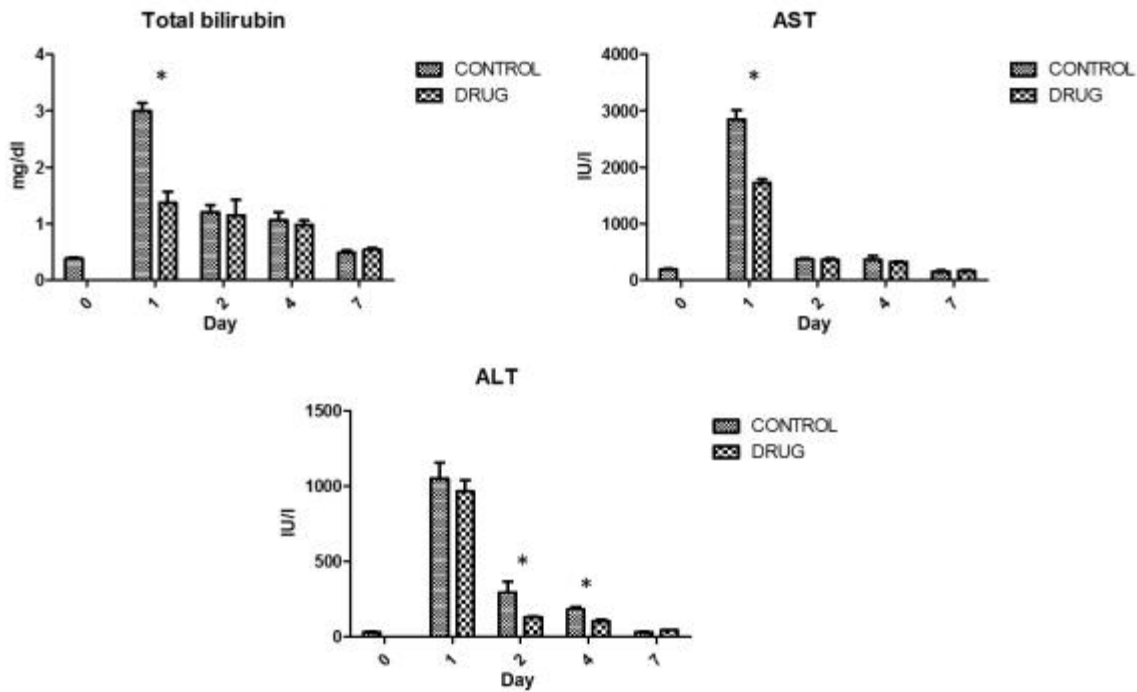


Fig. 7. The liver function test including total bilirubin, aspartate aminotransferase (AST), and alanine aminotransferase (ALT) at preoperative status, postoperative day 1, 2, 4, and 7 between control and SCF+GM-CSF group (*: $p < 0.05$).

3. hepatocyte proliferation with ki-67 immunohistochemistry and Cyclin D

- At operation day, postoperative day 2, 4, and 7, the liver specimen was obtained and stained with hematoxylin and eosin, and Ki-67. In immunohistochemistry using Ki-67, SCF+GM-CSF group showed higher expression value than control group at postoperative period, especially day 4 (343.3 ± 35.4 vs. 535.7 ± 56.4 , $p = 0.045$, Fig. 8) Maximum proliferation of hepatocytes was observed at postoperative day 2.

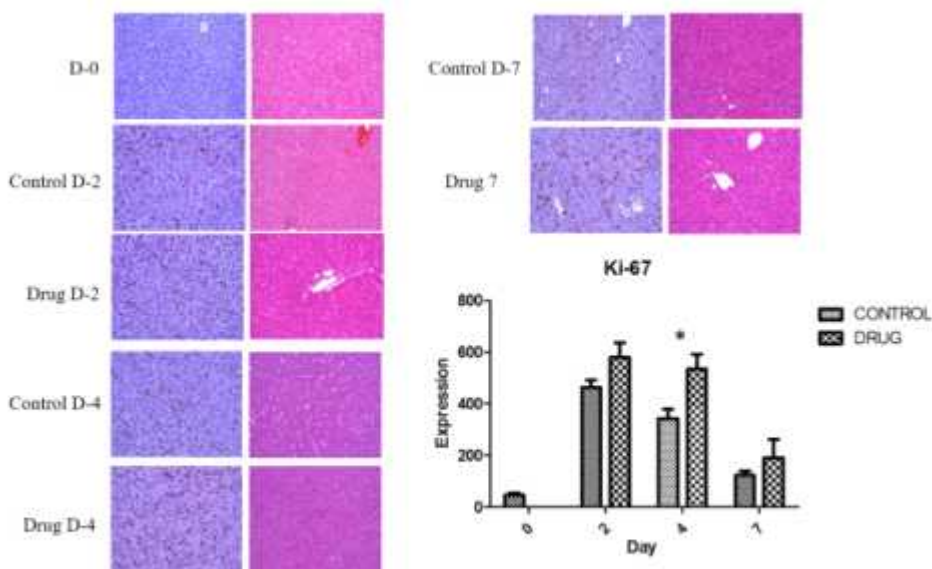
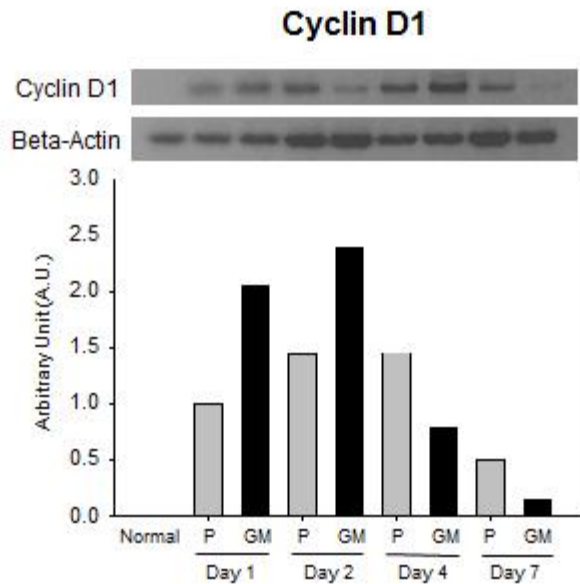


Fig. 8. Immunohistochemistry for liver tissue using Ki-67. SCF+GM-CSF group showed significant increased expression at postoperative day 4 compared with control group (*: $p < 0.05$).



4. Modulated IL-6 and TGF- β cytokines and CXCL-12/CXCR4 pathway

- Under 24 hours after 90% PH, IL-6 and TGF- β in the blood were checked at preoperative status, postoperative 1, 4, 8, and 24 hours. The level of IL-6 and TGF- β in SCF+GM-CSF group demonstrated significantly higher than those in control group (Fig. 9). Especially, in case of IL-6, control group showed the restoration to normal range at postoperative 24 hours, but SCF+GM-CSF group showed the increased status at postoperative 24 hours.

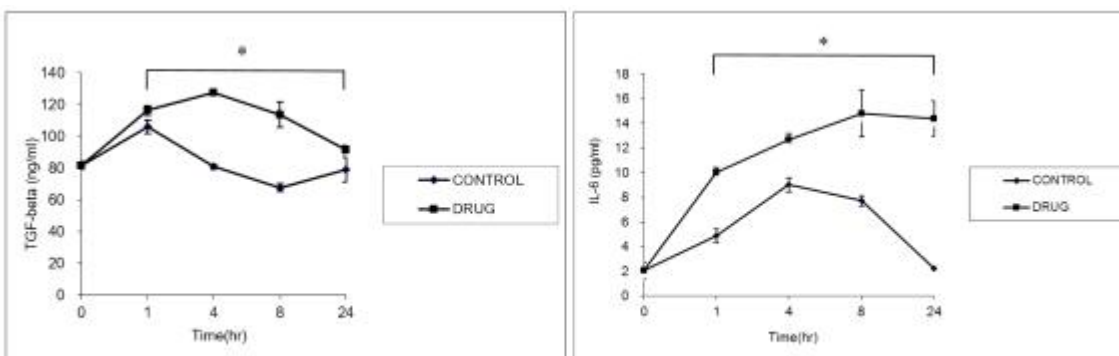


Fig. 9. The trend of TGF- β and IL-6 after 90% PH in control and SCF+GM-CSF group (*: $p < 0.05$).

- CXCL12 and CXCR4, which are secreted by cells within injured tissue, and appear to be crucial for the migration of mesenchymal stem cells (MSCs) to certain damaged tissues including liver, were checked by quantitative PCR in liver tissue at preoperative status, postoperative day 1, 2, 4, and 7. In SCF+GM-CSF group, the level of CXCL12

was significantly increased at postoperative day 1 and 7, whereas the level of CXCR4 was significantly increased at postoperative day 2 (Fig. 10).



Fig. 10. The relative expression of CXCL12 and CXCR4 after 90% PH in control and SCF+GM-CSF group analyzed by quantitative PCR (*: $p < 0.05$).

5. Changes of matrix remodeling enzymes of MMPs and TIMP-3 after the administration of SCF and GM-CSF

- Liver resection triggers hepatocyte proliferation and hepatic/biliary matrix remodeling. These are important events in the regenerating liver. Matrix metalloproteinases (MMPs) are a family of zinc-containing neutral proteinases that are involved in matrix remodeling in both normal and pathophysiological processes. To confirm the functional relevance of SCF and GM-CSF-dependent modulation of regeneration, we assessed the expression of MMPs involved in cell remodeling. Treatment with SCF and GM-CSF significantly increased MMP-2 and MMP-9 mRNA expressions in liver tissue at postoperative day 1,4 and 2,7, respectively when compared to control group (Fig. 11). However, target 3'-UTR of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3) was decreased at postoperative 2 day compared to control group. TIMP-3 has unique domains that interact with extracellular matrix components and, unlike the other TIMPs, is mainly bound to tissue matrix. Our findings provide evidence of a link between SCF with combination of GM-CSF and the expression of mediators of cell remodeling in liver cells.

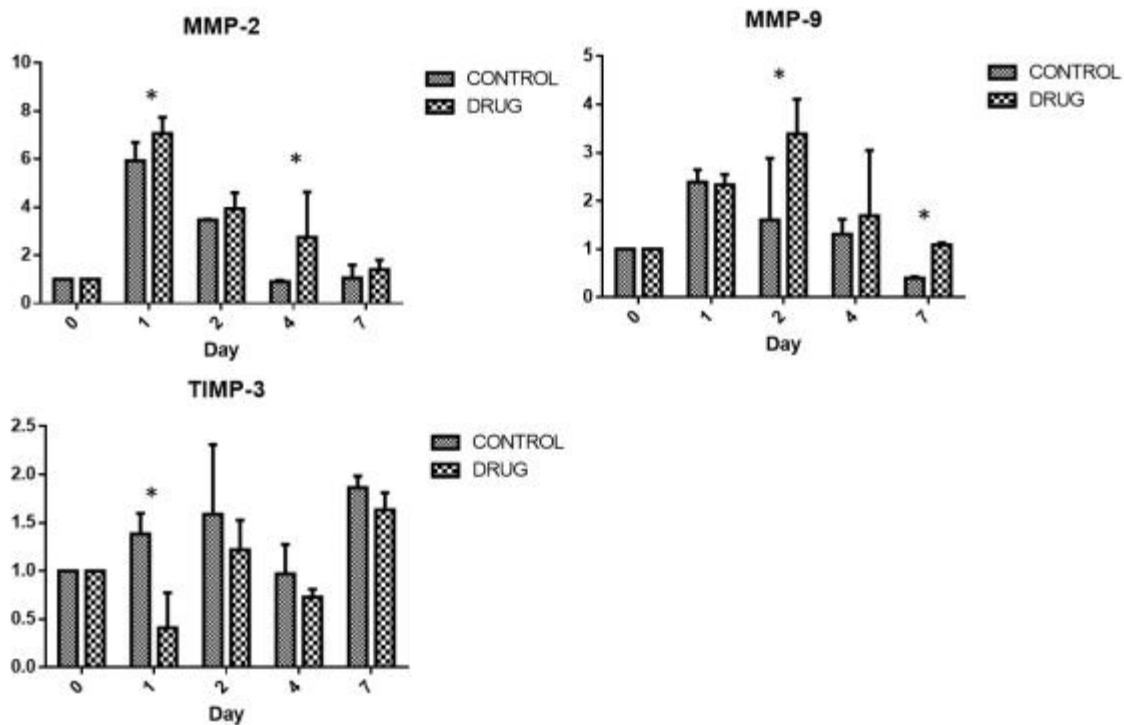


Fig. 11. The relative expression of MMP-2, MMP-9, and TIMP-3 after 90% PH in control and SCF+GM-CSF group

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

4-1. 연구목표의 달성도

목 표	달성도(%)	내 용
다양한 간절제 모델 확립	100%	- 80%, 90%, 95% 간절제 모델 확립 (새로운 technique 개발)
약물 투여 연구	90%	- 약물 투여군과 비투여군 간의 생존율 및 간기능 수치, 간재생 평가

4-2. 관련 분야 기여도

- 새로운 90% rat hepatectomy 모델 확립 (생존율을 95% 이상으로 올림)
- SCF 와 GM-CSF의 in-vivo effect에 대해서 실험적으로 밝힘
- 임상적 시도 가능성 제공

5. 연구결과의 활용계획

5-1 추가 연구 필요성 및 타연구에의 응용

- 간절제 및 간이식에서 잔존간의 빠른 재생은 환자의 생명과 직결되어 있음. 약물의 유용성을 확인하기 위해 in-vivo study에서 SCF와 GM-CSF 단독으로의 자료가 필요함.
- 종양 조직의 재발 가능성으로 종양이 있는 쥐에서 절제후 재생 여부를 보는 것도 추가 연구가 필요함.
- 간절제후 잔존간이 작아 small-for-size가 있는 환자에서 시험적으로 투여해 볼수 있음.

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 다양한 간절제 모델 (conventional hepatectomy부터 vessle-oriented hepatectomy model)
- bone marrow activation cytokine이 liver tissue 의 regeneration 에 관여됨.

7. 연구개발과제의 대표적 연구실적

연번	논문제목	SCI/SCIE	Impact Factor ¹⁾	paper 발간일	online 발간일	grant	기타 ²⁾
1	ABO incompatible living donor liver transplantation without graft local infusion and splenectomy	SCI-E	2.05	2014-09-01			in print (First author)
2	Prognostic Significance of Preoperative Peripheral Blood Monocyte Ratio in Patients with Hepatocellular Carcinoma	SCI	2.348	2014-09-01			in print (First author)
3	Clinicopathological features and prognosis of combined hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma after surgery	SCI-E	1.167	2014-12-01			in print (First author)
4	Kinetics of B, T, NK lymphocytes and isoagglutinin titers in ABO incompatible living donor liver transplantation using rituximab and basiliximab	SCI	1.457	2015-01-01			in print (First Author)
5	Clinical Impact of 18F-Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography/Computed Tomography in Living Donor Liver Transplantation for Advanced Hepatocellular Carcinoma.	SCI	3.828	2015-10-01		1410910-2	in print (First author)
6	The combined effect of stem cell factor and granulocyte macrophage colony-stimulating factor administration after 90% partial hepatectomy in rats using modified ligation technique					1410910-2	manuscript preparation

8. 참여연구원 현황

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

9. 기타사항

10. 참고문헌

1. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science*. 1997;276(5309):60-6.
2. Lee SD, Kim SH, Kim YK, Lee SA, Park SJ. Graft-to-recipient weight ratio lower to 0.7% is safe without portal pressure modulation in right-lobe living donor liver transplantation with favorable conditions. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2014;13(1):18-24.
3. Kim HJ, Kim CY, Park EK, Hur YH, Koh YS, Kim HJ, et al. Volumetric analysis and indocyanine green retention rate at 15 min as predictors of post-hepatectomy liver failure. *HPB (Oxford)*. 2015;17(2):159-67.
4. Shirabe K, Shimada M, Gion T, Hasegawa H, Takenaka K, Utsunomiya T, et al. Postoperative liver failure after major hepatic resection for hepatocellular carcinoma in the modern era with special reference to remnant liver volume. *J Am Coll Surg*. 1999;188(3):304-9.
5. Madrahimov N, Dirsch O, Broelsch C, Dahmen U. Marginal hepatectomy in the rat: from anatomy to surgery. *Ann Surg*. 2006;244(1):89-98.
6. Higgins GM, M. AR. Experimental pathology of the liver. I. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch Pathol Lab Med*. 1931(12):186-202.
7. Martins PN, Theruvath TP, Neuhaus P. Rodent models of partial hepatectomies. *Liver Int*. 2008;28(1):3-11.
8. Kubota T, Takabe K, Yang M, Sekido H, Ichikawa Y, Togo S, et al. Minimum sizes for remnant and transplanted livers in rats. *J Hep Bil Pancr Surg*. 1997(4):398-404.
9. Michalopoulos GK. Liver regeneration. *J Cell Physiol*. 2007;213(2):286-300.
10. Fausto N, Laird AD, Webber EM. Liver regeneration. 2. Role of growth factors and cytokines in hepatic regeneration. *FASEB J*. 1995;9(15):1527-36.
11. Castilla A, Prieto J, Fausto N. Transforming growth factors beta 1 and alpha in chronic liver disease. Effects of interferon alfa therapy. *N Engl J Med*. 1991;324(14):933-40.
12. Cressman DE, Greenbaum LE, DeAngelis RA, Ciliberto G, Furth EE, Poli V, et al. Liver failure and defective hepatocyte regeneration in interleukin-6-deficient mice.

Science. 1996;274(5291):1379-83.

13. Yamada Y, Webber EM, Kirillova I, Peschon JJ, Fausto N. Analysis of liver regeneration in mice lacking type 1 or type 2 tumor necrosis factor receptor: requirement for type 1 but not type 2 receptor. *Hepatology*. 1998;28(4):959-70.

14. Thorgeirsson SS. Hepatic stem cells in liver regeneration. *FASEB J*. 1996;10(11):1249-56.

15. Kollet O, Shivtiel S, Chen YQ, Suriawinata J, Thung SN, Dabeva MD, et al. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34+ stem cell recruitment to the liver. *J Clin Invest*. 2003;112(2):160-9.

16. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*. 1999;284(5417):1168-70.

17. Alison MR, Poulson R, Jeffery R, Dhillon AP, Quaglia A, Jacob J, et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature*.

<별첨작성 양식>

[별첨]

자체평가의견서

1. 과제현황

	과제번호		1410910		
사업구분	기관고유연구사업				
연구분야	S-1		과제구분	단위	
사업명	기관고유연구사업			주관	
총괄과제			총괄책임자		
과제명	흰쥐 부분 간질제 모델에서 간재생에 영향을 주는 약물에 대한 연구		과제유형		기초
연구기관	국립암센터		연구책임자		이승덕
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	연구비	민간	계
	1차년도	2014.05.01.- 2014.12.31	50,000 천원		
	2차년도	2015.1.1. - 2015.12.31	63,000 천원		
	3차년도				
	계	2014.05.01. - 2015.12.31.	113,000 천원		
참여기업					
상대국			상대국연구기관		

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2015-10-26

3. 평가자(과제책임자) :

소속	직위	성명
국립암센터	의사	이승덕

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	이승덕
----	-----

I. 연구개발실적

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

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

아주우수

: 수술 현미경을 사용하여 담도를 유지하고 간문맥 및 간동맥만 결찰하는 수술 방법을 개발하여 90% 간절제 흰쥐에서 생존율을 95% 이상 올림.

간 재생에 효과가 있다고 알려진 SCF와 GM-CSF를 in-vivo 투여하여 그 효과를 증명함.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

우수

간절제와 간이식후의 환자 생명과 직결된 간재생의 문제에 대해서 현재까지 알려진 약제가 없는 상황에서 그 대안으로 SCF, GM-CSF를 사용할수 있는 기초연구를 제안함.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

우수

전임상 단계의 실험으로 현재 BM activation을 위해 임상에서 사용중인 SCF, GM-CSF를 간세포 재생 용도로 사용가능하도록 기초적인 연구를 제공함.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

아주우수

: 짧은 기간임에도 불구하고, 수술 기술을 연마하고, 그에 합당한 다양한 기초 연구를 진행하였음.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

우수

: 본 연구를 통해서 익힌 술기를 통해서 간절제와 간이식 관련하여 상위 랭크의 논문들을 작성함.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체 평가
다양한 간절제 모델 확립	30	100	80, 90% 간절제 후 생존율을 높임.
약물 투여 연구	70	90	약물 투여군과 비투여군간의 생존율 및 간기능 차이를 알아 보았고, 그 mechanism을 분석함.
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

일반적인 mass ligation technique으로 극단적인 90% 이상 간절제에서 실험에 필요한 생존율을 얻을수 없어, 현미경적 미세수술 하에서 담도를 살리고, portal vein과 hepatic artery를 결찰하는 방법으로 좋은 생존율을 얻음. 이를 통해 다양한 in-vivo trial을 시행할수 있으며 특히 본연구에서 SCF와 GM-CSF를 사용하여 combination 약물의 효과를 입증함.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

비교적 짧은 시간내에 실험동물 기술을 익혔으며, 그에 대한 결과를 도출하였음. 향후 BM migration 및 repopulation mechanism에 대한 분석이 더 요구됨.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

간절제와 간이식 후의 small-for-size syndrom 환자들에게 투여할 수 있는 약물로서 전임상 단계에서 in-vivo 실험을 진행하였으며 그 효과를 입증함. 향후 임상에서도 사용될 수 있으리라 생각됨.

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

--

2. 연구기관 자체의 검토결과

--

11. 제0세부과제

- 세부과제별로 별도로 작성함
- 각 세부과제의 계획서의 표지는 색지로 작성하여 쉽게 구분될 수 있도록 함.
표지에는 다음과 같은 사항을 반드시 기재함.

세부과제명 :

세부과제책임자(성명/소속) :