

106年度 【 Andrographolide 對人類誘導型多潛能、牙髓幹細胞及口腔癌細胞的酸鹼離子調控機轉及細胞分化的研究(2-3) 】 2年期經費核定總表

執行機構：國防醫學院

主 持 人：羅時鴻

教授[藥理學科]

年 度	業 務 費	研究設備費	國外差旅費	吳大猷獎	管 理 費	合 計	繳交報告時間 報 告 種 類
106	1,415,500	-----	-----	-----	188,500	1,604,000	107年5月底前 期中進度報告
107	1,442,300	-----	-----	-----	188,700	1,631,000	108年10月底前 期末報告
合 計	2,857,800	-----	-----	-----	377,200	3,235,000	
全程執行期限： 106/08/01 ~ 108/07/31		計畫編號：MOST 106-2320-B-016 -003 -MY2					

研究類型：一般型研究計畫(個別型)

學門名稱：藥理及毒理

流水號：106WFE0150187

研究性質：導向性基礎研究

承辦人：李婉瑩

研究成果歸屬：國防醫學院

各項費用之支用請依「科技部補助專題研究計畫經費處理原則」規定辦理。

【 Andrographolide 對人類誘導型多潛能、牙髓幹細胞及口腔癌細胞的酸鹼離子調控機轉及細胞分化的研究(2-3)(1/2) 】第1年經費清單

執行機構：國防醫學院

主 持 人：羅時鴻

教授[藥理學科]

補助項目	申請金額	核定金額	說 明
業務費	1,317,316	1,415,500	一、研究人力費：754,800元 1. 助理人員費用599,800元 2. 本部依規定主動增核研究主持費1名，月支10,000元(12.000月計) 3. 自107年起補增核研究主持費5,000元/月(合計35,000元) 二、耗材、物品、圖書及雜項費用：660,700元 三、本計畫彈性支用額度為25,000元
管理費	131,732	188,500	一、本部依規定主動增核管理費 二、研究主持費不核列管理費
合 計	1,449,048	1,604,000	
執行期限：106/08/01 ~ 108/07/31			計畫編號：MOST 106-2320-B-016 -003 -MY2

研究類型：一般型研究計畫(個別型)

【 Andrographolide 對人類誘導型多潛能、牙髓幹細胞及口腔癌細胞的酸鹼離子調控機轉及細胞分化的研究(2-3)(2/2) 】第2年經費清單

執行機構：國防醫學院

主 持 人：羅時鴻

教授[藥理學科]

補助項目	申請金額	核定金額	說 明
業務費	1,319,571	1,442,300	一、研究人力費：792,300元 1. 助理人員費用612,300元 2. 本部依規定主動增核研究主持費1名，月支15,000元(12.000月計) 二、耗材、物品、圖書及雜項費用：650,000元 三、本計畫彈性支用額度為25,000元
管理費	131,957	188,700	一、本部依規定主動增核管理費 二、研究主持費不核列管理費
合 計	1,451,528	1,631,000	
執行期限：107/08/01 ~ 108/07/31			計畫編號：MOST 106-2320-B-016 -003 -MY2

研究類型：一般型研究計畫(個別型)

106年度 【 乙型利鈉胜肽對心房纖維化之影響及其機制之探討 】 3年期經費核定總表

執行機構：國防醫學院

主 持 人：蔡宜廷
 共同主持人：羅時鴻
 蔡建松

副教授[醫學系]
 教授[藥理學科]
 教授[外科]

年 度	業 務 費	研究設備費	國外差旅費	吳大猷獎	管 理 費	合 計	繳交報告時間 報 告 種 類
106	1,181,100	-----	-----	-----	153,900	1,335,000	107年5月底前 期中進度報告
107	1,206,100	-----	-----	-----	153,900	1,360,000	108年5月底前 期中進度報告
108	1,206,100	-----	-----	-----	153,900	1,360,000	109年10月底前 期末報告
合 計	3,593,300	-----	-----	-----	461,700	4,055,000	
全程執行期限： 106/08/01 ~ 109/07/31 計畫編號：MOST 106-2314-B-016 -037 -MY3							

研究類型：一般研究計畫(個別型)
 研究性質：導向性基礎研究
 研究成果歸屬：國防醫學院
 各項費用之支用請依「科技部補助專題研究計畫經費處理原則」規定辦理。

學門名稱：心臟血管外科

流水號：106WFE0150133
 承辦人：曹又仁

【 乙型利鈉胜肽對心房纖維化之影響及其機制之探討(1/3) 】 第1年經費清單

執行機構：國防醫學院

主 持 人：蔡宜廷 副教授[醫學系]
 共同主持人：羅時鴻 教授[藥理學科]
 蔡建松 教授[外科]

補助項目	申請金額	核定金額	說 明
業務費	1,261,720	1,181,100	一、研究人力費：621,100元 1. 助理人員費用466,100元 2. 本部依規定主動增核研究主持費1名，月支10,000元(12.000月計) 3. 自107年起補增核研究主持費5,000元/月(合計35,000元) 二、耗材、物品、圖書及雜項費用：560,000元 三、本計畫彈性支用額度為25,000元
管理費	126,172	153,900	一、本部主動增核管理費 二、研究主持費不核列管理費
合 計	1,387,892	1,335,000	
執行期限：106/08/01 ~ 109/07/31			計畫編號：MOST 106-2314-B-016 -037 -MY3

研究類型：一般研究計畫(個別型)

【 乙型利鈉胜肽對心房纖維化之影響及其機制之探討(2/3) 】 第2年經費清單

執行機構：國防醫學院

主 持 人：蔡宜廷 副教授[醫學系]
 共同主持人：羅時鴻 教授[藥理學科]
 蔡建松 教授[外科]

補助項目	申請金額	核定金額	說 明
業務費	1,344,140	1,206,100	一、研究人力費：646,100元 1. 助理人員費用466,100元 2. 本部依規定主動增核研究主持費1名，月支15,000元(12.000月計) 二、耗材、物品、圖書及雜項費用：560,000元 三、本計畫彈性支用額度為25,000元
管理費	134,414	153,900	一、本部主動增核管理費 二、研究主持費不核列管理費
合 計	1,478,554	1,360,000	
執行期限：107/08/01 ~ 109/07/31			計畫編號：MOST 106-2314-B-016 -037 -MY3

研究類型：一般研究計畫(個別型)

【 乙型利鈉胜肽對心房纖維化之影響及其機制之探討(3/3) 】 第3年經費清單

執行機構：國防醫學院

主 持 人：蔡宜廷
共同主持人：羅時鴻
蔡建松副教授[醫學系]
教授[藥理學科]
教授[外科]

補助項目	申請金額	核定金額	說 明
業務費	1,405,739	1,206,100	一、研究人力費：646,100元 1. 助理人員費用466,100元 2. 本部依規定主動增核研究主持費1名，月支15,000元(12.000月計) 二、耗材、物品、圖書及雜項費用：560,000元 三、本計畫彈性支用額度為25,000元
管理費	140,574	153,900	一、本部主動增核管理費 二、研究主持費不核列管理費
合 計	1,546,313	1,360,000	
執行期限：108/08/01 ~ 109/07/31			計畫編號：MOST 106-2314-B-016 -037 -MY3

研究類型：一般研究計畫(個別型)

國防醫學院

國防醫學研究發展計畫報告
 醫療事業基金

人類誘導型多功能幹細胞與牙髓 幹細胞酸鹼調控機轉的基礎生理 及臨床轉譯研究(1/3)

計畫編號：MAB-106-033

執行單位：藥理學科

主持人：羅時鴻主任

執行時間：自106年01月01日至106年12月31日

報告日期：中華民國106年12月25日

目錄

一、研究動機、目的及文獻探討.....	錯誤! 尚未定義書籤。
二、研究前言.....	錯誤! 尚未定義書籤。
三、實驗材料與方法.....	錯誤! 尚未定義書籤。
實驗材料.....	錯誤! 尚未定義書籤。
實驗方法.....	錯誤! 尚未定義書籤。
四、實驗結果及結論.....	錯誤! 尚未定義書籤。
五、參考資料.....	錯誤! 尚未定義書籤。

摘要

細胞內酸鹼平衡參與了細胞中許多不同的生理功能，例如細胞分化、遷徙、生長、凋亡以及代謝，許多研究已經表明癌細胞透過上調排酸蛋白的活性，將細胞內過多的氫離子排出細胞以維持細胞內較高鹼的環境以及細胞外較酸的環境，這樣的逆梯度有利於細胞適應高增生特性與細胞遷徙浸潤，在胚胎發育的過程中，多功能幹細胞也同樣的表現高增值及高遷徙特性，我們認為癌細胞與多功能幹細胞擁有類似的酸鹼調節特性，由於直至今日為止並沒有足夠的研究探討幹細胞的酸鹼調控特性，因此本研究想要探討在多功能幹細胞上酸鹼調控蛋白的功能特性以及鑑定。實驗中我們使用螢光顯微技術測定載入酸鹼敏感螢光物質 BCECF-AM 進入細胞，並且使用氯化銨預灌流技術促使細胞內酸化，隨後的螢光回復曲線及為排酸蛋白的活性。在 HEPES 溶液底下發現人類誘導性多功能幹細胞在灌流無鈉溶液時，pH 值回復曲線受到明顯抑制，而在給予 30 μ M Bafilomycin A1 後同樣部分抑制 pH 值回復，最後灌流添加 30 μ M Bafilomycin A1 的無鈉溶液後，大部分的 pH 值回復能力受到抑制。而在肺癌細胞 A549 則觀察到，灌流添加 30 μ M Bafilomycin A1 的無鈉溶液後完全的抑制 pH 值的回覆能力。在此篇研究中我們首次證明 hiPSCs 及 A549 上存在著 NHE1 及 V-ATPase，並且具有功能性，而 hiPSCs 則具有另一種未知排酸蛋白。

Abstract

Intracellular pH (pH_i) homeostasis plays a vital role in many cellular function, such as cell differentiation, migration, proliferation, apoptosis and metabolism. Several studies indicated that the up-regulation of acid-extruders to promote the revers pH gradient of intra-extracellular in tumor, which provide the adaptability of high proliferation and cell migration. We consider that pluripotent stem cells also have the same property of higher activity of acid-extrusion mechanism. However, the pH_i regulation of human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) still unknow. Thus, the aims of this study were functional characterized the mechanism of pH_i regulation in hiPSCs and human lung cancer cells. In our study indicated that pH_i recovery slope following NH_4Cl pre-pulse induced intracellular acidification were partially inhibited by removal of Na^+ , application of 30 μM bafilomycin A1 and Na^+ free with 30 μM bafilomycin A1, respectively, in HEPES buffered condition (HCO_3^- free) on hiPSCs. The completed inhibition of pH_i recovery was observed in A549, when the cells perfused with Na^+ free contained 30 μM bafilomycin A1. In conclusion, we demonstrated for the first time that NHE1 and V-ATPase functionally co-existed on hiPSCs and A549, and another unknown acid-extruder observed on hiPSCs.

Keywords: human induce pluripotent stem cells, lung cancer cell, $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchanger, V-ATPase, intracellular pH_i .

國防醫學院

國防醫學研究發展計畫報告
 醫療事業基金

幾丁聚醣結合明膠或膠原蛋白戰 傷止血敷料之開發(1/2)

計畫編號：MAB-105-043

執行單位：整形外科

主持人：陸軍上校 戴念梓

執行時間：自105年01月01日105
至105年12月31日

報告日期：中華民國105年12月30日

國防醫學研究發展計畫報告

目錄

壹、中文摘要.....	(I)
貳、英文摘要.....	(II)
一、研究動機.....	(01)
二、研究目的.....	(04)
三、文獻探討.....	(05)
四、研究材料及方法.....	(09)
五、研究材料及方法.....	(10)
六、研究結果.....	(15)
七、結 論.....	(21)
八、對國軍建軍戰備具體建議或貢獻	(22)
九、參考文獻.....	(23)

中文摘要

在戰傷中無法控制的大出血是造成官兵死亡的主要原因，傳統的止血帶及加壓包紮止血效果有限且容易造成肢體缺血性壞死等嚴重後遺症，此外，也不適合大規模的傷口急救等缺點，因此，研發出具有安全、有效與快速止血的材料，成為減少傷兵死亡的急迫研究課題。

在緊急出血狀況下，如何止血成為首要重點，可以設計特殊的敷料先覆蓋傷口，達到止血以及促進傷口癒合。膠原蛋白是脊椎動物體內含量最豐富的一種硬蛋白，明膠則是膠原蛋白的部分水解物質，先前研究指出含明膠或明膠結合膠原蛋白之敷料具有促進傷口癒合及止血的效果，此外，幾丁聚醣本身具有可使紅血球聚集的凝血機制，因此，研發將幾丁聚醣添加至明膠或明膠結合膠原蛋白之敷料製備方法，將具更優質的止血效果。初步研究結果顯示，添加不同比例之幾丁聚醣至先前開發之含明膠/PCL所製成的止血敷料製備方法，並經由體外生物相容性與體外凝血實驗。初步顯示大白鼠斷尾止血測試實驗來檢測不同幾丁聚醣含量所造成止血效果，接著將最佳化之止血敷料進行降解測試及免疫排斥分析，作為此研發新的止血敷料上市前評估參考依據，以製備更好的生物相容性止血敷料來保障官兵的生命安全。

關鍵詞：

幾丁聚醣(chitosan) 、明膠(Gelatin)、膠原蛋白(Collagen)、止血敷材(Hemostatic Dressing)、傷口癒合(wound closure)

英文摘要

Massive bleeding is the leading cause of battlefield-related deaths and the second leading cause of deaths in civilian trauma centers. One of the challenges of managing severe wounds is the need to promote hemostasis as quickly as possible, which can be achieved by using hemostatic dressings. In this study, we fabricated two kinds of gelatin/polycaprolactone (PCL) composites with two ratios of gelatin/PCL, 1:1 and 2:1 (GP11 and GP21, respectively). Scanning electron microscopy revealed (SEM) revealed that the GP11 composite exhibited rougher and more porous structure than the GP21 composite did. Furthermore, both composites showed similar biocompatibility as that of tissue culture polystyrene (TCPS). Moreover, both GP composites tended to show a gradual decrease in contact angle to zero within 40 minutes. The *in vitro* blood plasma coagulation assay revealed that the prothrombin time (PT) was significantly longer for the GP composites than it was for the Quikclot composite, whereas the activated partial thromboplastin time (aPTT) of the GP11 composite was significantly shorter than that of the gauze. Furthermore, the GP11 had the largest platelet adsorption of all the composites. The *in vivo* coagulation test showed an obvious shortening of the bleeding time with the

Quikclot and GP21 compared with gauze sample. In conclusion, the GP composites showed superior biocompatibility and hemostasis to the gauze and comparable effects with the Quikclot composite. Therefore, the GP composites have the potential for development as biodegradable surgical hemostatic agents.

Keywords: hemostasis, gelatin, polycaprolactone, biocompatibility

MAB 106 001	國防醫學院	醫學研究所	武國璋	人類誘導型多潛能幹細胞軍陣醫學研究 — 從基礎到臨床轉譯性應用	整合09	基礎醫學	420,000
MAB-106-032	國防醫學院	醫學科學研究所	武國璋	人類誘導型多潛能幹細胞及分化體細胞於微環境變化之生理、病理轉譯研究 (1/3)	整合09	基礎醫學	420,000
MAB-106-033	國防醫學院	藥理學科	羅時鴻	人類誘導型多潛能幹細胞及分化體細胞的酸鹼離子調控機轉-生理、藥理轉譯研究(1/3)	整合09	基礎醫學	400,000
MAB-106-034	國防醫學院	整形外科	戴念梓	誘導型多潛能幹細胞應用於軟骨創傷之組織工程轉譯研究 (1/3)	整合09	基礎醫學	380,000
MAB-106-035	國防醫學院	神經外科	陳元皓	人類誘導性多潛能性幹細胞分化之神經先驅細胞移植治療大腦損傷的調控機轉-生理、藥理轉譯研究 (1/3)	整合09	基礎醫學	370,000
MAB-106-036	國防醫學院	病理(學)科	楊秉恆	人類誘導型多潛能幹細胞分化之血小板先驅細胞治療血小板低下之調控機制-生理、藥理的轉譯研究 (第1年/共3年)	整合09	基礎醫學	350,000

整合11	國防醫學院	整形外科	戴念梓	戰傷皮膚創傷控制、傷口癒合及相關機制研究(一)			
MAB-105-043	國防醫學院	整形外科	戴念梓	幾丁聚醣結合明膠或膠原蛋白戰傷止血敷料之開發(1/2)	整合14	戰傷醫學	290,000

國防醫學院

國防醫學研究發展計畫報告
 醫療事業基金

誘導型多潛能幹細胞應用於軟骨 創傷之組織工程轉譯研究 (1/3)

計畫編號：MAB-106-034

執行單位：整形外科

主持人：陸軍上校 戴念梓

執行時間：自106年01月01日

至106年12月31日

報告日期：中華民國106年12月25日

國防醫學研究發展計畫報告

目錄

壹、中文摘要.....	(I)
貳、英文摘要.....	(II)
一、研究動機.....	(01)
二、研究目的.....	(03)
三、文獻探討.....	(04)
四、研究材料及方法.....	(08)
五、研究材料及方法.....	(10)
六、研究結果.....	(18)
七、結 論.....	(22)
八、對國軍建軍戰備具體建議或貢獻	(23)
九、參考文獻.....	(24)

中文摘要

軟骨缺損是受損軟骨的區域。軟骨缺損的原因可能是由於外傷，骨壞死，骨軟骨炎和其他病症。在膝關節中最常見的是軟骨缺損，在這種情況下，膝關節常常是由創傷引起的，並與韌帶損傷（如ACL撕裂）有關。誘導多能幹細胞（iPSC），iPSC來自皮膚，脂肪來源的干細胞（ADSC）或已被重新編程為胚胎樣多能狀態的血細胞，使得能夠開發任何類型的人的無限源細胞需要治療的目的。在這項研究中，我們成功地通過ADSC感染四種基因（包括Sox-2，Oct3 / 4，c-Myc和Klf4）來創建iPSC。我們使用免疫熒光染色來標記iPSC（例如Tra-1-60，Tra-1-81，Oct-4，Sox-2和Nango）的特異性蛋白質。PCR結果顯示，iPSCs特異性基因也具有差異表達三個胚層的能力。體內實驗中，通過皮下注射（SC）將裸鼠注射到裸鼠中誘導畸胎瘤形成2個月。此外，我們還通過H&E染色觀察了3個胚層的形態，並試圖構建iPSC作為補充軟骨細胞來源的差異化方法。

中文關鍵詞：誘導多潛能幹細胞、脂肪幹細胞、生物分解性複合支架、軟骨組織工程、軟骨分化

Abstract

A cartilage defect is an area of damaged cartilage. The cause of a cartilage defect can be due to trauma, osteonecrosis, osteochondritis, and other conditions. Cartilage defects are most commonly seen in the knee joint, where it is often caused by trauma and seen in association with ligament injuries, such as ACL tears. Induced pluripotent stem cells (iPSC), iPSC are derived from skin, adipose-derived stem cell (ADSC) or blood cells that have been reprogrammed back into an embryonic-like pluripotent state that enables the development of an unlimited source of any type of human cell needed for therapeutic purposes. In this study, we succeeded to create iPSCs by ADSC infected four gene including Sox-2, Oct3/4, c-Myc and Klf4. we used immunofluorescence stain to label the specificity protein for the iPSCs (ex. Tra-1-60, Tra-1-81, Oct-4, Sox-2 and Nango). The PCR result showed that the iPSCs specificity genes also were performed the ability of differential for three germ layer. In vivo experiment, iPSCs were injected to nude mice by subcutaneous injection (SC) to induce teratoma formation for 2 months. Furthermore, we also observed the morphology of three germ layer by H&E stain, and tried to construct the differential method of iPSCs as a supplement chondrocytes source.

|Key words : induced pluripotent stem cells (iPSC) 、 adipose-derived stem cells (ADSCs) 、 cartilage tissue engineering 、 cartilage differentiation



財團法人德澤醫學研究基金會

計畫編號

A1061037-2

3

計畫名稱

黑色素瘤中的氫離子代謝

全程起迄

106/1

~ 108/12

本年起迄

107/1

~ 107/12

主持人

羅時鴻

職稱

主任

辦理延期

機關

國防醫學院

科部

藥理學科

經費變更

繳交成果報告

計畫結束

不催繳

審查

預算使用率%

31.83

計畫經費－管理費(5%)＋前期計畫餘額－報帳金額－保費,勞退＝目前可用餘額

600,000

－ 30,000

＋

78,632

－

190,985

－

7,498

=

450,149

收件日	帳務日	入帳金額	報帳金額	保費	勞退	備註
	107/01/09	300,000				
	107/01/30		20,000	2,231	990	楊騏毓107.1
107/02/07	107/02/12		100,985			羅時鴻,慧眾,弘屹,盟
	107/02/26		60,000	1,146		羅時鴻107.2
	107/02/26		10,000	2,181	950	蔡慧菱107.2
	107/02/26	300,000				



財團法人德澤醫學研究基金會

計畫編號

A1061054-2

3

計畫名稱

肺非小細胞癌、子宮頸癌及大腸癌之藥物開發及癌細胞篩選平台技術研究

全程起迄

106/3

~ 109/2

本年起迄

106/3

~ 106/12

主持人

羅時鴻

職稱

教授

辦理延期

機關

國防醫學院

科部

藥理學科

經費變更

繳交成果報告

計畫結束

不催繳

審查

預算使用率%

#####

計畫經費－管理費(5%)＋前期計畫餘額－報帳金額－保費,勞退＝目前可用餘額

0

－ 0

＋ 822,361

－ 80,000

－ 1,528

＝ 740,833

收件日	帳務日	入帳金額	報帳金額	保費	勞退	備註
	107/01/30		20,000	382		林宜靜107.1
	107/02/26		60,000	1,146		羅時鴻107.2