

**Q. stroke이후 Blood와 peripheral organ을 한번에 scRNA seq할 때, 해줬다고 하는 Organ specific labeling이 무엇인가?**

A. Mouse에 tMCAO로 stroke를 유도한 다음, organ각각에서 CD45+ CD11b+ myeloid cell을 sorting해서 unique한 hashtag(surface antibody)를 붙인 다음 같은 collecting tube에 넣어 pooling 후 sequencing을 진행합니다. 어떤 organ에서 유래하였는지 알고자 antibody로 tagging해주는 과정을 말합니다.

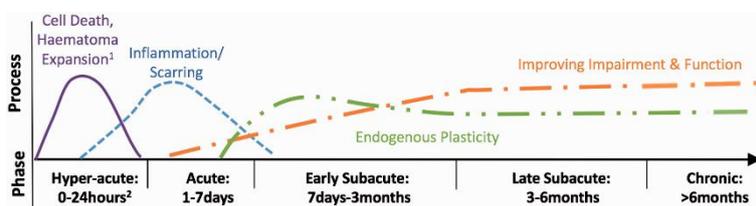
**Q. 면역세포의 monocyte가 나쁜 역할을 하는 쪽으로 변화했다는 것인가?**

A. 초기 발생한 IL-1b에 의해 HSC에 epigenetic reprogramming을 일으켜서 거기서 유래한 monocyte 또한 같은 chromatin accessibility를 유지하고 있어 inflammation관련된 역할을 할 수 있게 되는데 이것이 다른 organ으로 가면 2차 병증을 일으킬 수있다고 말합니다.

**Q. control에서 EF값이 떨어지는 이유?**

A. 55~70%사이에는 정상 range라고 볼 수 있습니다.

**Q. Human stroke 3개월~6개월이 human기준해서 mouse의 chronic phase와 연관성이 있는가? 임상 human sample은 어떠한 기준으로 선정한건지?**



A. <sup>1</sup> Haemorrhagic stroke specific. <sup>2</sup> Treatments extend to 24 hours to accommodate options for anterior and posterior circulation, as well as basilar occlusion.

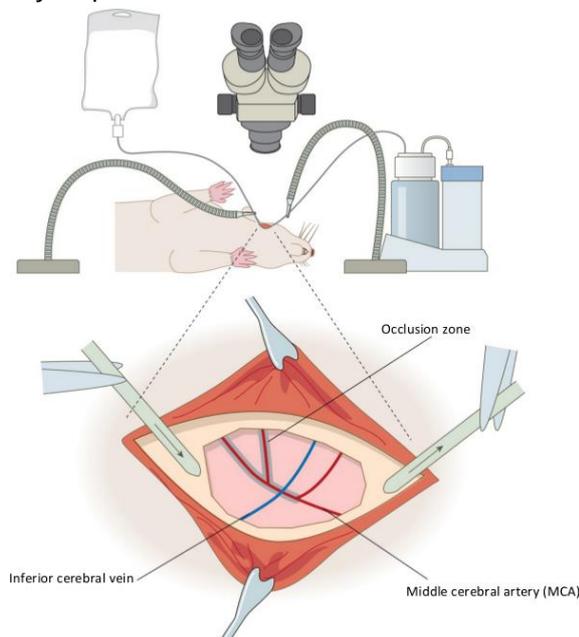
<https://www.brainqtech.com/blog/why-does-the-subacute-phase-matter-in-stroke-recovery>

본 논문에서는 왜 3-6개월까지 follow up했는지는 기술한 바 없지만, 찾아본 결과

human의 stroke recovery 과정 중 3-6개월은 late subacute phase로 chronic직전의 상황 이면서 이때의 stroke rehabilitation은 이차 합병증 예방에 도움이 될 수 있다고 알려져 있기 때문에 이 때를 선정해서 cardiac phenotype를 관찰한 것 같습니다.

**Q. stroke후 lesion의 크기 정도에 따라서 cardiac 복합 질환의 가능성이 차이가 난다는 말? dMCAO 모델은 어떤 모델인가?**

A6. 다르게 stroke를 mouse에 유도하여서 lesion의 크기를 조절하였는데, TIA나 distal MCAo는 fMCAo와 달리 lesion의 크기가 작게 유도된다. Lesion의 크기가 작으면 BM내에 myelopoiesis가 제대로 유도되지 않아 결론적으로 심장 합병증의 가능성은 적어진다.



J Vis Exp. 2016 Feb 23;(108):53106.

dMCAO는 위와 같이 유도하는데 마우스를 마취시킨 뒤, 눈과 귀 사이의 피부를 절개한 후 측두근을 제거합니다. MCAO를 확인한 상태에서 구멍을 뚫고 경막을 제거하여 bipolar electrocoagulation을 사용하여 MCAO를 지지 영구적으로 occlusion하는 기법입니다. tMCAO는 외경동맥에 실리콘 필라멘트를 삽입하여 내경동맥을 향해 전진시켜 MCA를 block하고 reperfusion하는데 비해 dMCAo는 MCAo만을 occlusion하기 때문에 lesion부위가 적다.

**Q7. Acute phase에서 IL1b를 중화시켜주었을 때 BM cellularity가 변화한다는 것은, acute한 phase에서 IL1b가 핵심 mediator로 작용하여 심장에 2차 합병증을 일으킬 수 있다고 본 것이 아닌가? 그렇다면 acute phase의 mediator를 찾는 게 의미가 있을까? 근본적으로 HSC가 변화한 상황에서 infiltration과 resident를 따지는 것이 큰 의미가 있을까?**

A7. 제 연구를 통해 알고자 하는 것은 stroke이후 acute phase의 heart내 immune population이 어떻게 달라지며, 이것이 chronic phase에서 monocyte의 recruitment를 증가시킬 수 있는 요인이 될 수 있는가 인데, 일단 stroke이후 heart내 immune population의 변화를 일으키는 직접적인 mediator는 얘기하지 않고 있어서 밝히는 것이 중요한 novelty가 될 것 같습니다. Resident macrophage는 adult 이후의 HSC에서 유래한 것이 아니기 때문에 심장 내 resident macrophage의 역할을 규명하는 것도 중요한 것 같습니다.

**Q8. CCR2/5 antagonist사용이유? 다른 질환에도 많이 사용하는가? recruit되는 것을 억제하는 것이 중요한 핵심 포인트가 될 수 있지 않을까?**

A8. HSC에서 monocyte로 분화된 cell의 infiltration을 막는 antagonist로 HIV나 지방간염과 같은 모델에서도 사용하여 치료효과를 보고 safety를 인정받은 상태입니다. 결국 epigenetic reprogramming된 monocyte가 recruitment되어야만 heart 2차 질환이 발생한다는 것을 증명해준 실험이기도 해서 monocyte의 infiltration을 유도하는 cardiac environment는 어떤 상태인지 연구하는 것은 유의미할 것 같습니다.