

기관고유연구사업 최종보고서

연구분야(코드)	실용화연구(B-3)	과제번호	1210110		지원 프로그램	(일반연구)과제	
과제성격(기초,응용,개발)			실용화 대상여부	실용화	공개가능여부 (공개,비공개)		공개
연구과제명		(국문)전립선암의 Circulating Tumor Cell 및 SNP 연구 (영문)Detection of Criculating Tumor Cell and SNP study in Prostate Cancer					
과제책임자		소 속	국립암센터	직 위	원장		
		성 명	이강현	전 공	비뇨기과학		
세부과제	구분	세부과제명			세부과제책임자		
		성명	소속(직위)	전 공			
	1	전립선암의 Circulating Tumor Cell 및 SNP 연구			이강현	국립암센터 (원장)	비뇨기과 학
	2						
3							
총 연구기간		2012년 1 월~ 2014년 12월(총 3 년)		참여연구원수 (단위: 명, MY)		6	
연구기간 및 연구비 (단위:천원)	구분	연구 기간	계	국립 암센터	기업부담금		
					소계	현금	현물
	계	2012.1.1.~2014.1 2.31	6	6			
	제1차	2012.1.1.~2012.1 2.31	6	6			
	제2차	2013.1.1.~2013.1 2.31	6	6			
제3차	2014.1.1.~2014.1 2.31	6	6				
참 여 기 업		명 칭		전화		FAX	
기관고유연구사업관리규칙에 따라 본 연구개발사업을 성실히 수행하였으며 아래와 같이 최종보고서를 제출합니다.							
2014년 10월 일							
과제책임자 이 강 현 (서명)							
국립 암 센터 원 장 귀 하							
(첨부서류)							

작성요령

- 반드시 편집순서에 따라 작성하여야 함
- 전년도 연차실적을 포함하여 전체 사업기간에 대한 연구결과와 성과를 중심으로 기술함
- 필요한 경우 소제목을 설정하여 체계적인 형식을 갖추도록 함
- 요약문은 연구목표, 연구내용 및 방법, 연구성과 등을 중심으로 작성함
- 요약문중 중심단어(key words)는 5개 이내로 반드시 기재해야 함
- 번호나 기호를 사용한 보고서 형태로 작성하고 표나 그림을 이용할 수 있음. 단, 동 보고서와 함께 제출하는 전산파일에도 같은 표와 그림이 첨부되어 있어야 함

목 차

< 요약 문 >

(한글)

(영문)

1. 연구의 최종목표
2. 연구의 내용 및 결과
3. 연구결과 고찰 및 결론
4. 연구성과 및 목표달성도
5. 연구결과의 활용계획
6. 참고문헌
7. 첨부서류

※ 여러개의 세부과제로 과제가 구성된 경우 위 목차와 동일하게 세부과제별로 작성함

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

< 요약 문 >

<p>연구목표 (200자 이내)</p>	<p><최종목표></p> <p>- 전립선 선암환자 혈액에서 혈액순환종양세포(CTC; Circulating Tumor Cell)의 존재 유무를 확인하며, 전립선 암조직에서 전립선암의 주요 표지자인 PSCA, PSMA, PCA3 등의 발현을 확인하고 이들 결과를 전립선암 DB와 비교하여 재발 및 병진행의 예측인자로서의 가치를 검증함으로써 미세전이 여부를 고려한 맞춤 치료에 적용 한다. 또한 전립선암의 발생과 연관이 있을 것으로 판단 되는 주요 유전자의 유전적 다형성을 한국인에서 검증, 확인하여 맞춤 예방치료에 적용</p> <p><2014년 당해연도목표></p> <p>- 40명의 환자에서 CTC 검출 - 전립선암 환자에서 전립선암 관련 candidate gene SNPs 및 haplotype 분석</p>
<p>연구내용 및 방법 (500자 이내)</p>	<p>1.CTC 연구</p> <p>-말초 단핵구의 분리 및 RNA의 분리 EDTA처리된 전혈로부터 유핵세포분획을 Percoll gradient (Pharmacia, Freiburg, Germany) 원심분리로 얻는다. 총 RNA를RNeasy kit (Qiagen, Hilden, Germany)로 분리한 후 즉시 얼려 -70C에 보관한다. 조직의 RNA는 TRIzol reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA)로 분리한다.</p> <p>-역전사 RNA (1.5 g)와 0.5 g의 oligo d(T) (Promega, Heidelberg, Germany)를 11ul로 반응 시킨다. 70C에서 10분 간 반응 시킨후 즉시 얼음에 방치한다. 각각의 RNA 검체에, 4ul의 반응완충액(consisting of 250 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5), 358 mmol/L KCl, 15 mmol/L MgCl₂, 50 mmol/Ldithiothreanine(DTT), 2u L of distilled water, 1uL of dNTP (10 mmol/Leach) (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany), 1uL (10 units) of RNase inhibitor (Boehringer Mannheim), and 1uL of M-MLV reverse transcriptase (Promega))를 추가한다. 즉시 잠깐 원심분리 후 37C에서 90분간 반응시킨 후 최종 cDNA를 -20C에 보관하거나 즉시 PCR에 이용한다.</p> <p>-PCR 산물의 분석</p> <p>-면역조직화학적 염색 전립선암 수술 검체 TMA(tissue micro array)를 이용하여 새로운 종양표지자의 면역조직화학적 염색 시행한다.</p> <p>2. SNP 연구</p> <p>-Genetic polymorphism in prostate cancer related gene : SEQUENOM Mass Array system을 이용하여 Hospital-based matched case-control study를 시행하며 전립선암 환자 및 대조군에서에서 PSCA, AMACR, CAV, eNOS, 8q24, NINJ1, POU5F1P1 유전자의 genetic polymorphisms 연구를 시행한다. Hospital-based, matched case-control study를 통해 상기 유전자의 SNPs와 haplotype을 분석한다.</p>

	<p>3. CTC 통계학적 분석</p> <p>-Primary endpoints: 국소 전립선암 환자의 수술 후 생화학적 재발의 예측 인자로서 PSCA, PSMA, PCA3 발현의 유용성을 확인.</p> <p>-Secondary endpoints:</p> <p>-전립선 피막 외로의 종양 침윤, 골반 임파절 전이 등의 전립선암의 병리학적 병기와 PSCA, PSMA, PCA3 발현사이의 연관성을 확인.</p> <p>-혈액 sample의 PSCA, PSMA, PCA3에 대한 RT-PCR의 결과와 진단 당시의 serum PSA level, pathologic stage (extraprostatic extension, seminal vesicle invasion and metastasis), Gleason score, 그리고 면역화학염색의 결과 등의 임상 자료와의 상관관계를 Chi-square (or Fisher's exact test)를 이용하여 확인한다.</p> <p>-근치적 전립선절제술 후의 생화학적 재발의 예측인자로서의 유용성을 확인하기 위해 RT-PCR 및 면역화학염색 결과를 Cox proportional hazard model 등을 이용하여 통계분석을 시행한다. RT-PCR 양성 유무에 따른 생화학적 재발 여부를 확인하기 위해 Kaplan-Meier 생존분석을 적용한다.</p>																	
<p style="text-align: center;">연구개발에 따른 기대성과</p>	<p><정량적 성과¹⁾></p> <table border="1" data-bbox="491 992 1428 1131"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>달성치/목표치¹⁾</th> <th>달성도(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SCI 논문 편수</td> <td>2/2</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>IF 합</td> <td>6.7/5</td> <td>134</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></p> <p>-정성적 성과</p> <p>전립선암 환자의 혈액에서 CTC를 검출하여 치료 후 재발의 예측인자로 활용함으로써 개개의 환자 맞춤형 치료를 적용하는데 있어 표지자로 적용할 수 있을 것으로 기대</p> <p>한국인에 있어 전립선암의 발생과 관련성이 있는 유전자의 다형성(genetic polymorphism)을 확인함으로써 전립선암의 선별검사가 필요한 대상을 구체화할 수 있을 것으로 기대</p>	구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)	SCI 논문 편수	2/2	100	IF 합	6.7/5	134	기타 성과							
구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)																
SCI 논문 편수	2/2	100																
IF 합	6.7/5	134																
기타 성과																		
<p>색인어</p>	<table border="1" data-bbox="448 1592 1495 1926"> <tr> <td rowspan="2" style="text-align: center;">국문</td> <td>전립선</td> <td>선암</td> <td>순환종양세포</td> </tr> <tr> <td>다형성</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="3" style="text-align: center;">영문</td> <td>prostate</td> <td>adenocarcinoma</td> <td>circulating tumor cell</td> </tr> <tr> <td>polymorphism</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	국문	전립선	선암	순환종양세포	다형성			영문	prostate	adenocarcinoma	circulating tumor cell	polymorphism					
국문	전립선		선암	순환종양세포														
	다형성																	
영문	prostate	adenocarcinoma	circulating tumor cell															
	polymorphism																	

※ 요약문의 총분량은 2page 이내로 제한함

Project Summary

Title of Project	Detection of circulating tumor cell and SNP study in prostate cancer
Key Words	prostate, adenocarcinoma, circulating tumor cell, polymorphism
Project Leader	Lee Kang Hyun
Associated Company	None

Main objectives: We performed this study to detect circulating tumor cells (CTCs) in peripheral blood and identify genetic polymorphism of some candidate genes in prostate cancer among Korean men.

Particular objectives as follow:

- To detect circulating tumor cells in peripheral blood of patients with prostate cancer
- To identify the expression of PSCA, PSMA and PCA3 in prostate cancer tissue
- To evaluate any prognostic value of CTC detection in predicting tumor recurrence following radical prostatectomy in prostate cancer patients
- To identify the genetic polymorphisms of some prostate candidate genes including 8q24, PSCA, PSMA, AMACR etc through SNP study in Korean men

Methods:

Reverse transcriptase-polymerase chain (RT-PCR) assay was applied to detect CTCs bearing PSCA, PSMA, or PCA3 mRNA from peripheral blood sample of patients. We developed tissue microarray (TMA) block to check the expression of biologic tumor markers including PSCA, PSMA and PCA3 through immunohistochemical (IHC) stain. We analyzed any relationship of CTC detection and protein expression in tumor tissue with clinical factors such as serum PSA value, Gleason score or clinical stage. With cox regression model, we investigated whether CTC detection could predict any tumor recurrence following surgery or not.

As genetic polymorphism study, we performed SNP study for candidate SNPs of PSCA, PSMA, AMACR, 8q24, CAV1, eNOS, NINJ1, POU5F1P1 gene among 383 cases and 373 healthy controls. Genotyping was performed by the iPLEX Gold assay on the Mass ARRAY platform (Sequenom) based on MALDI-TOF spectrometry. We evaluated any association of genetic polymorphisms with risk of prostate cancer development in Korean.

Results:

In peripheral blood of 287 patients with prostate cancer, **CTCs bearing PSCA-, PSMA-, or PCA3 mRNA were detected in the peripheral blood of 139 (48.4%), 39 (13.6%), 170 (59.2%) patients** by RT-PCR, respectively. Logistic regression analysis revealed that extraprostatic extension of tumor was significantly associated with a high prostate specific antigen level ($p=0.019$), biopsy Gleason score ($p<0.001$), and clinical stage ($p=0.041$), but not with whether CTC detection or not. Regarding prognostic factors for biochemical recurrence (BCR) following surgery, PSCA (+) CTC detection tended to increase risk of BCR, which was not statistically significant (HR, 2.062; 95%CI 0.848–5.015; $p=0.111$). In subgroups of 103 patients with high-risk disease from previous study, patients with high GS ($> \text{ or } = 7$) tended to be PSCA-mRNA positive status ($P = 0.045$). Over a median 23 months of follow-up (range 3–47 months), BCR developed in 27 patients (26.2%). **PSCA (+) CTC detection** independently increased the risk of BCR (HR, 4.549; 95%CI, 1.685–12.279; $P = 0.003$). Based on the results of immunohistochemical study by using tissue microarray, overexpression of BRCA2 correlates positively with other adverse traditional prognostic factors and biochemical recurrence-free survival (HR, 0.609; 95% CI 0.418–0.888; $p=0.010$).

In the part of genetic polymorphisms study, we found some SNPs showing significant association with risk of prostate cancer development. In **PSCA gene**, rs1045531 AA genotype is associated with a higher risk of prostate cancer compared to CC genotype (adjusted OR, 1.99; 95% CI, 1.00–3.96; Cochran-Armitage trend test, $P=0.032$). In SNP of **8q24 locus**, The subjects with the rs1447295 CA or AA genotype had a higher risk of prostate cancer compared with the CC genotype. The A allele at SNP rs1447295 was associated with the incidence of prostate cancer. In **AMACR gene**, Individuals with the AG or GG genotype of rs2278008 (E277K) tended to lower prostate cancer risk. The minor G allele was found to be a significant allele that decreased the risk of prostate cancer (Adjusted OR, 0.57; 95% CI, 0.35–0.93, $p\text{-value}=0.025$). No association was found in SNPs of eNOS, CAV1, NINJ1 and POU5F1P1 gene.

Conclusions:

We detected PSCA(+), PSMA(+) or PCA3(+) CTCs by RT-PCR in peripheral blood of prostate cancer patients. In high-risk localized diseases, **PSCA(+)CTC detection** is a predictor of BCR following radical prostatectomy. In Korean men, genetic polymorphisms of **PSCA gene, common variants of 8q24, AMACR gene** tend to be associated with risk of prostate cancer development.

1. 연구의 최종목표

가. 최종목표

전립선 선암환자의 혈액 순환 세포(CTC; Circulating Tumor Cell) 및 전립선 암조직에서의 전립선암의 주요 표지자인 PSCA, PSMA, PCA3 등 생물학적표지자의 발현을 확인하여 전립선암 DB 구축을 통해 얻은 기존의 예후 인자와의 상관관계를 확인하고 임상 경과와 비교하여 임상적 재발 및 병진행의 예측인자로서의 가치를 검증함으로써 병기 결정 시의 미세전이의 진단, 미세전이의 여부를 고려한 맞춤 치료에 적용하고자 한다. 또한 전립선암의 발생 및 임상적 특성과 연관이 있을 것으로 판단되는 있는 주요 유전자의 유전적 다형성을 한국인에서 검증하고 확인하여 맞춤 예방치료에 적용

나. 세부목표

- 국소 전립선암 환자의 수술 후 생화학적 재발의 예측 인자로서 PSCA, PSMA, PCA3 발현의 유용성을 확인.
- 전립선 피막 외로의 종양 침윤, 골반 임파절 전이 등의 전립선암의 병리학적 병기와 PSCA, PSMA, PCA3 발현사이의 연관성을 확인.
- 혈액 sample의 PSCA, PSMA, PCA3에 대한 RT-PCR의 결과와 진단 당시의 serum PSA level, pathologic stage (extraprostatic extension, seminal vesicle invasion and metastasis), Gleason score, 그리고 면역화학염색의 결과 등의 임상 자료와의 상관관계를 Chi-square (or Fisher's exact test)를 이용하여 확인한다.
- 근치적 전립선절제술 후의 생화학적 재발의 예측인자로서의 유용성을 확인하기 위해 RT-PCR 및 면역화학염색 결과를 Cox proportional hazard model 등을 이용하여 통계분석을 시행한다. RT-PCR 양성 유무에 따른 생화학적 재발 여부를 확인하기 위해 Kaplan-Meier 생존분석을 적용한다.
- Single nucleotide polymorphism (SNP) 연구를 통한 PSCA, AMACR, CAV, eNOS, 8q24, NINJ1, POU5F1P1 유전자의 polymorphism이 한국인에서 전립선암 관련 유무를 확인하고자 함

2. 연구의 내용 및 결과

가. 연구수행방법

RT-PCR

말초단핵구의 분리 및 RNA의 분리

EDTA처리된 전혈로부터 유핵세포분획을 Percoll gradient (Pharmacia, Freiburg, Germany) 원심분리로 얻는다. 총 RNA를 RNeasy kit (Qiagen, Hilden, Germany)로 분리한 후 즉시 얼려 -70C에 보관한다. 조직의 RNA는 TRIzol reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA)로 분리한다.

역전사

RNA (1.5 g)와 0.5 g의 oligo d(T) (Promega, Heidelberg, Germany)를 11ul로 반응 시킨다. 70C에서 10분 간 반응 시킨후 즉시 얼음에 방치한다. 각각의 RNA 검체에, 4ul의 반응완충액 (consisting of 250 mmol/L Tris-HCl (pH 7.5), 358 mmol/L KCl, 15 mmol/L MgCl₂, 50 mmol/L dithiothreone(DTT), 2u L of distilled water, 1uL of dNTP (10 mmol/Leach) (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany), 1uL (10 units) of RNase inhibitor (Boehringer Mannheim), and 1uL of M-MLV reverse transcriptase (Promega))를 추가한다. 즉시 잠깐 원심분리 후 37C에서 90분간 반응시킨 후 최종 cDNA를 -20C에 보관하거나 즉시 PCR에 이용한다.

RT-PCR 측정의 민감도.

RT-PCR 측정의 민감도는 LNCaP 세포를 음성 대조군의 말초 단핵세포로 희석하여 측정한다. 말초단핵 세포는 앞에 기술된바와 같이 분리하고 세포 수를 측정한다. LNCaP 세포는 말초단핵세포에 다음의 비로 희석한다; 0:10⁷, 1:10⁷, 10:10⁷, 100:10⁷, 및 1,000:10⁷. RNA 분리 및 RT-PCR을 시행한다.

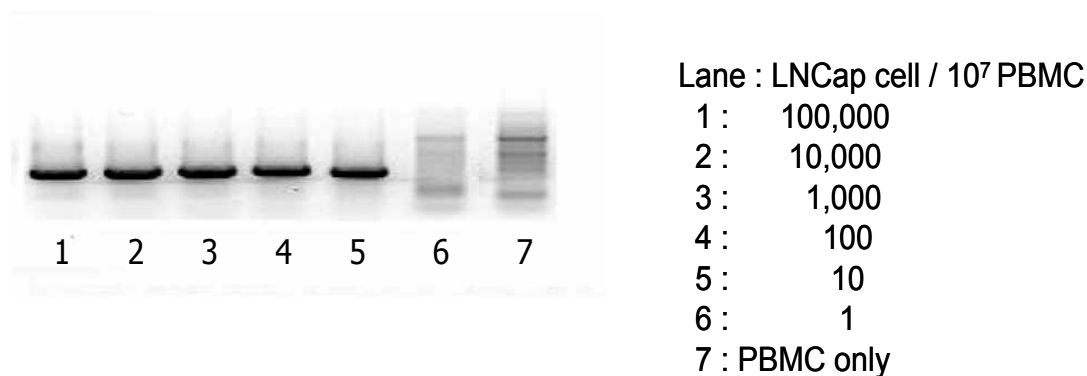
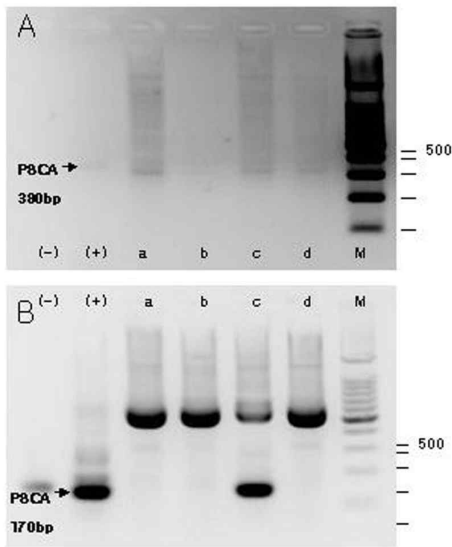


Figure 1. RT-PCR assay sensitivity test: dilution of LNCaP cells into 10⁷ peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of normal donors.

PCR산물의 분석.

10 ul의 PCR product을 6x loading dye 2ul와 섞은 후에 1.5% agarose gel in TBE buffer [0.1 mol/L Tris (pH 8.4), 90 mmol/L boric acid, and 1 mmol/L EDTA)에 assay 한다. 젤을 ethidium bromide로 염색한 후 PCR산물을 UV-transilluminator위에 올려놓



고 판독 및 촬영을 시행한다. 대표적인 PCR산물은 효소 절단 및 염기 서열분석을 시행한다.

Figure 2. Detection of PSCA-mRNA. (A) single PCR, (B) nested PCR in 4 samples (a-d)

면역조직화학적 염색.

환자의 생검 또는 절제된 전립선조직의 파라핀블록을 병리과에서 검색하여 면역조직화학적 검색을 시행한다. 파라핀 포매 조직을 박절하여 탈 파라핀 후 SLAB kit (Dako Co., Carpinteria, USA)를 이용하여 면역 조직 화학 염색을 시행한다. 먼저 과산화수소수로 조직의 peroxidase 활성을 없애고, 정상 염소혈청을 1시간 반응시켜 비특이적 반응을 억제 한 후 일차 항체(PSMA, PSCA, PCA3)를 18시간 반응시키고, 연결항체(linking antibody)로 정제된 바이오틴을 붙인 마우스 IgG에 대한 염소의 항체 (goat anti-mouse IgG)를 적용하고, 스트렙타아비딘과 서양고추냉이 과산화효소(horseradish peroxidase)복합체를 첨가한다. 발색은 diaminobenzidine (DAB, Dako)을 이용하며,과산화수소를 첨가한 DAB 용액을 가한 후 양성 대조군 조직이 양성을 보이는 순간에 증류수로 세척하여 반응을 중지시킨다. 각 반응 사이에는 인산화 완충 식염수 (phosphate buffered saline, PBS)로 세척하고, 반응 양상은 헤마톡실린을 동시에 시행하여 현미경 검경을 시행하여 분석한다.

Tissuemicroarray(TMA)

환자의 생검조직에 대한 tissue microarray를 제작하여 면역조직화학 염색을 시행한다. 종양과 정상조직을 각각 샘플마다 3군데씩 현미경 관찰 하에 선택한다. 선택된 부분에

해당하는 파라핀블록을 3mm의 core을 잘라내어 TMA 제작을 시행한다. 이후 면역조직화학염색은 위에 기술한 바와 같이 시행한다.

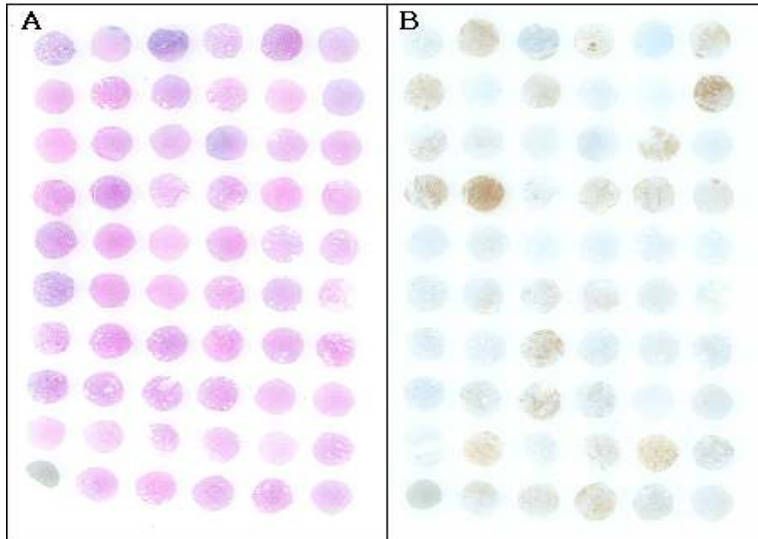


Figure 3. Tissue microarray construction (each 3 mm in diameter); Sections of each prostate tissue array block are transferred to glass slides. (A) H&E stain, (B) PSCA stain

Genetic polymorphism in prostate cancer related gene in Korean men

전립선암의 연구에 관심을 받고 있는 여러 생물학적 표지자 중 전립선암에 높은 특이도를 보이는 prostate stem cell antigen (PSCA) gene의 genetic polymorphism이 한국인의 전립선암의 발생과 연관성이 있다는 가정하에 한국인에서 PSCA gene의 SNPs와 haplotype을 알아보았다. 본연구에서 SEQUENOM Mass Array system을 이용하여 Hospital-based matched case-control study를 시행하며 전립선암 환자 및 대조군에서 PSCA, AMACR, CAV, eNOS, 8q24, NINJ1, POU5F1P1 etc 유전자의 genetic polymorphisms 연구를 시행한다. Hospital-based, matched case-control study를 통해 상기 유전자의 SNPs와 haplotype을 분석하여 보고한다.

대상환자.

혈액 순환 암세포 연구의 대상은 국립암센터의 전립선암센터의 환자 중 환자 또는 보호자의 동의를 얻은 경우 본 연구를 시행하며 대상 환자는 생검 또는 절제술로 전립선 선암으로 최종 진단된 환자들을 대상으로 한다. 선행 연구 결과를 참고하여 일차년도에 30명을 대상으로 시행하며, 2차년도에는 30례, 3차년도에는 40례 이상을 목표로 하여 전체 100명을 대상으로 한다.

환자들의 임상 데이터 베이스를 확보된 약 500례의 수술 검체 tissue micro array를 이용하여 새로운 중앙표지자의 면역조직화학염색 시행한다.

전립선암 관련 gene의 polymorphism을 확인하기 위한 SNP 연구에서의 실험군은 250명의 전립선암 환자로 대조군은 건강검진을 목적으로 암예방검진센터에 방문한 건강한 169명의 남성을 대

상으로 한다.

통계학적 분석.

Primary endpoints: 국소 전립선암 환자의 수술 후 생화학적 재발의 예측 인자로서 PSCA, PSMA, PCA3 발현의 유용성을 확인.

Secondary endpoints:

-전립선 피막 외로의 종양 침윤, 골반 임파절 전이 등의 전립선암의 병리학적 병기와 PSCA, PSMA, PCA3 발현사이의 연관성을 확인.

-전립선암의 Gleason score와 PSCA, PSMA, PCA3 발현 사이의 연관성을 확인.

대상 환자 수의 선정과 세부적인 통계 분석

-혈액 sample의 PSCA, PSMA, PCA3에 대한 RT-PCR의 결과와 진단 당시의 serum PSA level, pathologic stage (extraprostatic extension, seminal vesicle invasion and metastasis), Gleason score, 그리고 면역화학염색의 결과 등의 임상 자료와의 상관관계를 Chi-square (or Fisher's exact test)를 이용하여 확인한다.

-전립선 피막 외로의 종양 침윤과 골반 임파절 전이를 예측할 수 있는 위험 인자를 확인하기 위해 real time-PCR을 통한 혈액에서의 PSCA, PSMA, PCA3의 발현, 면역화학염색을 통한 조직에서의 PSCA, PSMA, PCA3의 발현, 진단 당시 serum PSA level 그리고 Gleason score 등의 결과를 Logistic regression model를 이용하여 분석한다.

-근치적 전립선절제술 후의 생화학적 재발의 예측인자로서의 유용성을 확인하기 위해 RT-PCR 및 면역화학염색 결과를 Cox proportional hazard model 등을 이용하여 통계분석을 시행한다. Real time-PCR 양성 유무에 따른 생화학적 재발 여부를 확인하기 위해 Kaplan-Meier 생존분석을 적용한다.

-전립선암의 발생과 관련있는 candidate genes의 SNPs와 haplotypes을 확인한다.

- 모든 통계학적 분석은 STATA 9.0 프로그램을 이용하며 $P < 0.05$ 경우를 통계학적으로 의미 있는 것으로 정의한다.

나. 연구수행 내용 및 결과

(1) PSMA, PSCA, PCA3 mRNA 발현을 이용한 Circulating tumor cell 검출

1) 연구 대상의 임상적 특성

2012년 1월부터 2014년 10월까지 287명의 전립선암 환자를 대상으로 연구를 시행하였으며 대상 환자들의 임상적 특성 및 병리학적 특징은 Table 1, 2와 같다.

Table 1. Patients characteristics (n=287)

Variables	No. of patients (%)
PSA(ng/ml)	

< 4.1	21 (7.3)
4.1-10.0	148 (51.6)
10.1-20.0	68 (24.0)
> 20.0	49 (17.1)
Gleasonscore(biopsy)	
2-6	126 (43.9)
7	128 (44.6)
8-10	33 (11.5)
Clinicalstage	
cT1N0M0	87 (30.3)
cT2N0M0	131 (45.6)
cT3N0M0	59 (20.6)
cT4N0M0	1 (0.3)
N1or M1	9 (3.1)
Treatment	
RP	252 (87.8)
NHT+RP	35 (12.2)

RP, radical prostatectomy; NHT, neoadjuvant hormonal therapy

Table 2. Pathologic characteristics (n=287)

Variables	No. of patients (%)
Path.stage	
pT0N0M0	2 (0.7)
pT2N0M0	174 (60.6)
pT3N0M0	102 (35.5)
N1 or M1	9 (3.1)
Gleasonscore(postOP)	
NA	33 (11.5)
2-6	72 (25.1)
7	152 (53.0)
8-10	30 (10.5)
LVinvasion	
LVI(+)	19 (6.6)
LVI(-)	268 (93.4)
SVinvasion	
SVI(+)	45 (15.7)
SVI(-)	242 (84.3)
SurgicalMargin	
SM(+)	58 (20.2)
SM(-)	229 (79.8)

RP, radical prostatectomy; NHT, neoadjuvant hormonal therapy; LV, lymphovascular ;

SV, seminal vesicle; SM, surgical margin

2) RT-PCR 결과 분석

287명의 대상 환자 중에서 RT-PCR을 이용하여 PSMA 39명 (13.6%), PSCA 139명 (48.4%), PCA3 170명 (59.2%)에서 각각의 mRNA를 발현하는 CTC를 확인할 수 있었다 (Table 3). PSA, Gleason score 그리고 기타 임상 병리학적 인자와의 연관성을 확인하기 위한 통계적 분석을 시행하였다 (Table 3-4).

Table 3. Comparison of RT-PCR positivity with clinicopathologic parameters (n=287)

	No (%)	PSA+ N= 10(3.5%)	PSCA+ N= 139(48.4%)	PSMA+ N=39(13.6%)	Kallikrein+ N=7(2.4%)	PCA3+ N=170(59.2%)	Overall + N=231(80.5%)
PSA (ng/ml)							
< 4.1	21(7.3)	1(10.0)	9(6.5)	2(5.1)	0(0.0)	13(7.6)	14(6.1)
4.1-10.0	148(51.6)	5(50.0)	68(48.9)	22(56.4)	3(42.9)	83(48.8)	119(51.5)
10.1-20.0	69(24.0)	2(20.0)	32(23.0)	8(20.5)	4(57.1)	43(25.3)	55(23.8)
> 20.0	49(17.1)	2(20.0)	30(21.6)	7(17.9)	0(0.0)	31(18.2)	43(18.6)
GS(postop)							
Non-available	33(11.5)	2(20.0)	19(13.7)	4(10.3)	0(0.0)	22(12.9)	29(12.6)
2-6	72(25.1)	2(20.0)	27(19.4)	6(15.4)	1(14.3)	40(23.5)	53(22.7)
7-10	181(63.1)	6(60.0)	93(66.9)	29(74.4)	6(85.7)	108(63.5)	149(64.5)
path. stage							
pTONOMO	2(0.7)	0(0.0)	1(0.7)	0(0.0)	0(0.0)	2(1.2)	2(0.9)
pT2NOMO	174(60.6)	6(60.0)	79(56.8)	25(64.1)	4(57.1)	99(58.2)	136(58.9)
pT3NOMO	102(35.5)	4(40.0)	53(38.1)	13(33.3)	3(42.9)	61(35.9)	84(36.4)
LN+ or M1	9(3.1)	0(0.0)	6(4.3)	1(2.6)	0(0.0)	8(4.7)	9(3.9)
Surgical margin							
Margin(+)	58(20.2)	0(0.0)	33(23.7)	9(23.1)	1(14.3)	37(21.8)	50(21.6)
Margin(-)	229(79.8)	10(100.0)	106(76.3)	30(76.9)	6(85.7)	133(78.2)	181(78.4)
LV invasion							
LVI(+)	19(6.6)	0(0.0)	15(10.8)	2(5.1)	1(14.3)	13(7.6)	16(6.9)
LVI(-)	268(93.4)	10(100.0)	124(89.2)	37(94.9)	6(85.7)	157(92.4)	215(93.1)
SV invasion							
SV(+)	45(15.7)	3(30.0)	30(21.6)	5(12.8)	1(14.3)	32(18.8)	42(18.2)
SV(-)	242(84.3)	7(70.0)	109(78.4)	34(87.2)	6(85.7)	138(81.2)	189(81.8)
NHT							
NHT(+)	35(12.2)	2(20.0)	20(14.4)	5(12.8)	0(0.0)	24(14.1)	31(13.4)
NHT(-)	252(87.8)	8(80.0)	119(85.6)	34(87.2)	7(100.0)	146(85.9)	200(86.6)

LV, lymphovascular; SVI, seminal vesicle invasion; NHT, neoadjuvant hormonal therap

Table 4. Relationship between RT-PCR positivity and clinicopathologic parameters (n=287)

	PSA(+)	PSCA(+)	PSMA(+)	Kallikrein(+)	PCA3(+)	overall(+)
serum PSA	0.973	0.266	0.860	0.163	0.736	0.238
Gleason score	0.678	0.079	0.272	0.423	0.560	0.171
Path. stage	0.928	0.503	0.916	0.941	0.167	0.322
Surgical margin	0.221	0.185	0.668	1.000	0.458	0.268
LV invasion	1.000	0.008	1.000	0.384	0.475	1.000
SV invasion	0.195	0.009	0.813	1.000	0.098	0.022
NHT(+)	0.350	0.285	0.798	1.000	0.273	0.257

LV, lymphovascular; SV, seminal vesicle invasion ; NHT, neoadjuvant hormonal therapy

근치적 전립선절제술을 시행 받은 환자에서 임상-병리학적 특성에 따른 RT-PCR 결과를 살펴보면 CTC 검출은 GS가 높은 경우 높은 경향을 보인다. 그 외 병리학적 병기, 정낭 침윤 등의 병리학적 특성과는 연관성은 확인할 수 없었다 (Table 4).

3) 전립선 피막 외 침윤의 예측인자 [n=111(38.7%) ≥ pT3]

근치적 전립선절제술을 시행 받은 환자 중 병리학적으로 전립선 피막 외로의 침윤이 확인된 T3 병기 이상의 환자는 111명 (38.7%)으로 이러한 전립선 밖으로의 침윤을 예측하는 인자로는 serum PSA ≥ 20ng/ml, Gleason score ≥ 7, 임상적 병기 ≥ cT3 가 독립적인 예측인자로 확인되었으며 PSCA(+) CTC 검출이 전립선 피막 외로의 침윤 가능성을 높이는 경향을 보이나 통계적으로는 유의성을 보이지 않았다 (Table 5-6).

Table 5. Univariate analysis of predicting factors for extraprostatic extension

	HR	95%CI	p-value
PSA ≥ 20ng/ml*	5.554	2.827-10.912	<0.001
Gleason score ≥ 7*	4.997	2.906-8.592	<0.001
Clinical stage ≥ cT3*	5.141	2.866-9.220	<0.001
RT-PCR			
PSA(+)	1.059	0.292-3.840	0.930
PSCA(+)	1.362	0.845-2.193	0.204
PSMA(+)	0.872	0.432-1.759	0.702
Kallikrein(+)	1.194	0.262-5.440	0.818
PCA3(+)	1.220	0.750-1.984	0.423
overall(+)	1.423	0.766-2.643	0.265

*; P < 0.05

Table 6. Multivariate analysis of predicting factors for extraprostatic extension

	HR	95%CI	p-value
PSA \geq 20ng/ml*	2.624	1.175-5.861	0.019
Gleason score \geq 7*	3.387	1.882-6.094	<0.001
Clinical stage \geq cT3*	2.095	1.030-4.261	0.041
RT-PCR PSA(+)	1.020	0.230-4.525	0.979
RT-PCR PSCA(+)	1.256	0.370-2.353	0.478
RT-PCR PSMA(+)	0.771	0.337-1.767	0.539
RT-PCR Kallikrein(+)	1.377	0.279-6.787	0.694
RT-PCR PCA3(+)	1.044	0.508-2.144	0.907
RT-PCR overall (+)	1.023	0.364-2.874	0.966

*, P < 0.05

4) 면역조직화학검사(Immunohistochemistry)

절제된 전립선 조직을 이용해 510례의 tissue microarray를 제작하여 전립선암 관련된 생물학적 표지자인 AMACR (Alpha-methylacyl-CoA racemase), PSMA, PSCA, EFGR, bcl-2, p53, Rb loss, Cox2 등의 발현을 면역화학 염색을 통하여 확인하였으며 각각 표지 단백질의 양성도는 table 7과 같다.

Table 7-1. Results of Immunohistochemistry

Immunohistochemistry	Incidence of positive staining (%)
PSCA	413 (81.1)
EGFR	105 (20.6)
bcl-2	28 (32.9)
P53	33 (6.5)
Rb loss	212 (41.7)
Cerb-2	141 (27.7)
Cox2	337 (66.2)
Cyclin D1	353 (69.4)
VEGF strong	484 (95.1)
PTEN loss	214 (42.0)
ERG	144 (28.3)
PMS2	328 (64.4)
Ki67	130 (25.7)
BRCA1	475 (93.7)
BRCA2	212 (42.2)

이 중 BRCA1과 BRCA2의 면역염색 결과를 분석하여 BRCA1/BRCA2 과발현유무와 전립선암의 임상인자 그리고 수술 후 재발과의 연관성을 분석한 결과, BRCA2의 과발현이 BRCA1에 비해 많은 빈도로 나타났으며 higher GS, nodal metastasis 그리고 perineural invasion이 있는 경우 과발현이 높았다 (Table 7-2). 그리고 BRCA2의 과발현은 전립선암의 병기, 나환자의 나이와 함께 수술 후 BCR free survival을 예측하는 독립적인 예측

인자임을 확인할 수 있었다 (HR, 0.609; 95% CI 0.418-0.888; p=0.010; Figure 4).

Table 7-2. Correlation analysis of clinicopathological parameters to BRCA2 expression

Parameter	Mild intensity	Moderate intensity	High intensity	p-value
Stage No	225(77.6%)	74(67.3%)	67(65.0%)	0.036(OR 9.993)
N1	7(2.4%)	5(4.5%)	7(6.8%)	
Nx	58(20.0 %)	31(28.2%)	29(28.2%)	
PNI positive	154(53.8%)	70(24.5%)	62(21.7%)	0.045 (OR 4.157)
negative	136(63.3%)	39(18.1%)	40(18.6%)	
Gleason score	1 (0.3%)	3 (2.7%)	1 (1.0%)	
2-6	259(89.3%)	88(80.0%)	78 (75.7%)	
7-10	30 (10.3%)	19(17.3%)	24 (23.3%)	

Table 7-2. Correlation analysis of clinicopathological parameters to BRCA2 expression

Parameter	Mild intensity	Moderate intensity	High intensity	p-value
Stage No	225(77.6%)	74(67.3%)	67(65.0%)	0.036(OR 9.993)
N1	7(2.4%)	5(4.5%)	7(6.8%)	
Nx	58(20.0 %)	31(28.2%)	29(28.2%)	
PNI positive	154(53.8%)	70(24.5%)	62(21.7%)	0.045 (OR 4.157)
negative	136(63.3%)	39(18.1%)	40(18.6%)	
Gleason score	1 (0.3%)	3 (2.7%)	1 (1.0%)	
2-6	259(89.3%)	88(80.0%)	78 (75.7%)	
7-10	30 (10.3%)	19(17.3%)	24 (23.3%)	

Figure 4. Survival curve of biochemical recurrence according to BRCA2 expression

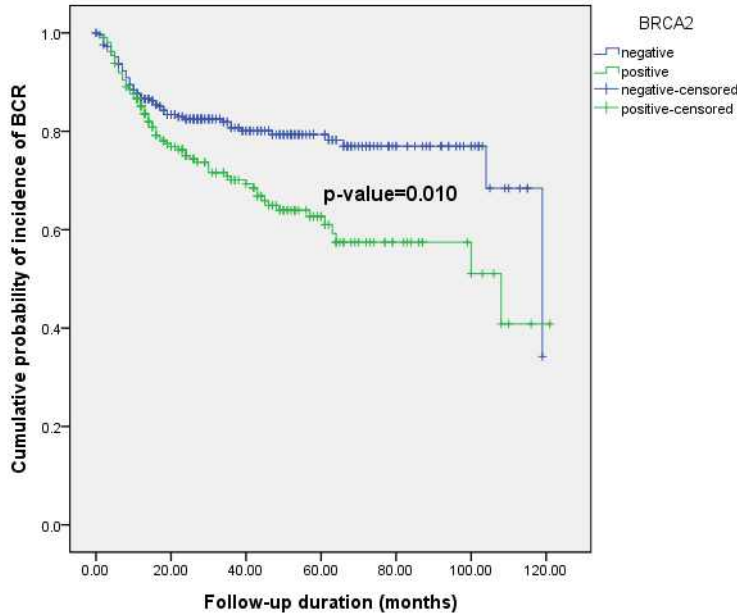


Table 8. Comparison of immunohistochemical results with clinicopathologic parameters (n=85)

Variables	No	AMACR(+)						
		PSMA(+)	PSCA(+)	EGFR(+)	bcl-2(+)	P 53(+)	Rb(+)	
		n=71(83.5%)	n=83(97.6)	n=55(64.7)	n=19(22.4)	n=28(32.9)	n=21(24.7)	n=48(56.5)
PSA(ng/ml)								
< 4.1	6	5(83.3)	6(100.0)	4(66.7)	1(16.7)	3(50.0)	1(16.7)	4(66.7)
4.1-10.0	47	40(85.1)	45(95.7)	33(70.2)	10(21.3)	18(38.3)	14(29.8)	28(59.6)
10.1-20.0	12	10(83.3)	12(100.0)	6(50.0)	3(25.0)	1(8.3)	2(16.7)	6(50.0)
> 20.0	20	16(80.0)	20(100.0)	12(60.0)	5(25.0)	6(30.0)	4(20.0)	10(50.0)
Gleason score								
2-6	44	35(79.5)	43(97.7)	27(61.4)	9(20.5)	13(29.5)	9(20.5)	24(54.5)
7-10	41	36(87.8)	40(97.6)	28(68.3)	10(24.4)	15(36.6)	12(29.3)	24(58.5)
Path. stage								
pT0N0M0	4	0(0)	4(100.0)	2(50.0)	2(50.0)	3(75.0)	0(0)	1(25.0)
pT2N0M0	53	47(88.7)	51(96.2)	37(69.8)	12(22.6)	17(32.1)	11(20.8)	35(66.0)
pT3N0M0	19	16(84.2)	19(100.0)	11(57.9)	2(10.5)	6(31.6)	7(36.8)	7(36.8)
N1 or M1	9	8(88.9)	9(100.0)	5(55.6)	3(33.3)	2(22.2)	3(33.3)	5(55.6)

*, P < 0.05

Table 9. Relationship between TMA positivity and clinicopathologic parameters (n=85)

	AMACR(+)	PSMA(+)	PSCA(+)	EGFR(+)	Bcl-2	P53(+)	Rb(+)
serum PSA	0.966	0.647	0.580	0.965	0.190	0.679	0.805
Gleason score	0.305	0.960	0.504	0.663	0.490	0.346	0.711
Path. stage	<0.001	0.744	0.637	0.270	0.295	0.305	0.087

5) 근치적 전립선 절제술 후 생화학적 재발의 예측인자

근치적 전립선 절제술을 시행 받은 환자 287명 중 술 후 3개월 이상의 관찰 기간을 가지고 종양의 재발을 진단하기 위한 혈청 PSA 검사를 시행한 환자를 대상으로 생화학적 재발을 확인하였다. 중간 관찰 기간 (median f/u) 은 17.0개월 (1-33개월) 으로 관찰기간 동안 45명 (15.7%)에서 생화학적 재발이 발생하였다. 단변량 회귀분석을 통해 LVI 이 근치적 전립선절제술 후 생화학적 재발을 증가시키는 경향을 보였으나 통계적으로 유지하지는 않았다 (p=0.083; Table 10) 말초혈액에서의 PSCA(+)/CTC 검출은 표지자의 검출여부는 생화학적 재발과의 연관성을 확인되지 않았다.

Table 10. Univariate analysis of prognostic factors for biochemical recurrence following RRP

Variables	HR	95%CI	p-value
PSA \geq 20ng/ml*	1.469	0.792-2.7241	0.223
Gleason score \geq 7*	1.555	0.551-4.389	0.377
LVI*	1.851	0.922-3.714	0.083
Surgical Margin	1.150	0.621-2.130	0.657
SVI*	1.345	0.742-2.440	0.329
RT-PCR			
PSA(+)	0.887	0.271-2.904	0.887
PSCA(+)	1.664	0.911-3.040	0.098
PSMA(+)	0.831	0.367-1.881	0.657
PCA3(+)	1.550	0.830-2.874	0.169
Overall(+)	1.633	0.718-3.717	0.242

*, P < 0.05

Table 11. Multivariate analysis of prognostic factors for biochemical recurrence following RRP

	HR	95%CI	p-value
PSA \geq 20ng/ml*	1.533	0.695-3.383	0.290
Gleason score \geq 7	1.989	0.661-5.982	0.221
LVI	1.611	0.674-3.853	0.284
SM	1.371	0.670-2.805	0.388
SVI	0.758	0.350-1.639	0.481

RT-PCR PSCA(+)	2.062	0.848-5.015	0.111
RT-PCR PCA3(+)	1.504	0.638-3.545	0.351
RT-PCR overall(+)	0.981	0.290-3.313	0.975

*, P < 0.05

선행 연구로 PSA \geq 20ng/ml, biopsy GS $>$ 7 혹은 clinical stage \geq cT2c 인 고위험군의 국소 전립선암 103명의 환자를 대상으로 분석한 결과, GS 높은 경우 PSCA(+)CTC 검출율이 높으며 (p=0.045). 23개월 (range 3-47개월) 중간 관찰 기간 동안 생화학적 재발이 27명 (26.2%)에서 발생하였으며 PSCA(+) CTC 검출 여부가 수술 후 생화학적 재발을 예측하는 독립적인 인자로 확인되었다 (HR, 4.549; 95%CI, 1.685-12.279; P = 0.003, Table 12).

Table 12. Univariate and multivariate analysis of prognostic factors for biochemical recurrence following RRP in high risk disease

	Univariate			Multivariate		
	HR	95%CI	p-value	HR	95%CI	p-value
PSA \geq 20	2.369	1.034-5.426	0.041	-	-	-
GS 8 or greater	2.805	1.311-6.002	0.008	2.188	1.001-4.784	0.050
Clinical stage \geq T2c	2.379	0.716-7.908	0.157	-	-	-
NHT	2.061	0.896-4.740	0.089	0.960	0.372-2.476	0.933
PSCA(+) positivity	2.855	1.202-6.781	0.017	3.222	1.280-8.113	0.013
LV tumor emboli	1.506	0.570-3.981	0.409	-	-	-
Capsular penetration	3.388	1.521-7.549	0.003	-	-	-
Positive surgical margin	1.124	0.491-2.575	0.782	-	-	-
SV invasion	5.973	2.609-13.673	<0.001	5.467	2.134-14.004	0.001

또한, 근치적 전립선절제술을 시행 받은 134명을 대상으로 한 연구에서 PSMA(+)CTC를 24명 (17.9%)에서 검출하였으며 Cox regression hazard model을 이용한 분석에서 PSMA(+)CTC 검출은 biopsy GS \geq 7와 함께 수술 후 생화학적 재발을 예측하는 인자임을 확인하였다 (Table 13).

Table 13. Univariate and multivariate analysis of prognostic factors for biochemical recurrence after surgery

	Univariate			Multivariate		
	HR	95%CI	p-value	HR	95%CI	p-value
Univariate						
Preoperative variables						
PSA \geq 10	2.433	0.865-6.845	0.092	2.254	0.759-6.692	0.143
Biopsy GS 7 or greater	5.607	1.782-17.639	0.003	4.500	1.419-14.274	0.011
Clinical stage \geq T3	1.989	0.446-8.868	0.367	2.605	0.550-12.332	0.227
RT-PCR PSMA positivity	4.075	1.440-11.531	0.008	3.697	1.285-10.634	0.015

Postsurgical variables

Pathologic stage \geq T3	6.439	2.198-18.859	0.001	4.016	1.194-13.511	0.025
GS 7 or greater	3.437	0.969-12.189	0.056	1.830	0.475-7.046	0.380
LV tumor emboli	5.486	1.873-16.068	0.002	2.278	0.697-7.449	0.173
Positive surgical margin	1.932	0.694-5.384	0.208	1.489	0.528-4.200	0.451

(2) Genetic polymorphism of prostate cancer-related gene in Korean men

1) PSCA gene polymorphism

현재 전립선암의 연구에 관심을 받고 있는 여러 생물학적 표지자 중 전립선암에 높은 특이도를 보이는 prostate stem cell antigen (PSCA) gene의 genetic polymorphism이 한국인의 전립선암의 발생과 연관성이 있다는 가정하에 한국인에서 PSCA gene의 SNPs와 haplotype을 알아보았다. SEQUENOM Mass Array system을 이용하여 Hospital-based matched case-control study를 시행하였다.

PSCA SNPs 중 rs1045531 AA 유전자형을 가지는 경우 CC 유전자형에 비해 전립선암의 발생이 높은 것을 확인하였으며 (adjusted OR, 1.99; 95% CI, 1.00-3.96; Cochran-Armitage trend test, $P=0.032$), haplotype 분석 결과, CCCGAGGTACGG haplotype을 가지는 경우 전립선암의 발생 위험이 높았다 (OR, 13.40; 95% CI, 1.33-134.67; $P = 0.028$). 대상 환자의 특성, genotype, 그리고 haplotype 분석 결과는 다음 표와 같다 (Table 12-14).

Table 14. Clinical and demographic characteristics of study populations

Variables	Patient	Control
sample size	194	169
Age	66.52 \pm 7.16	60.13 \pm 3.30
serum PSA	21.28 \pm 28.15	1.47 \pm 1.63
BMI	24.35 \pm 2.60	24.41 \pm 2.35
Smoking (pack of years)		
<20	101 (52.06%)	62 (51.24%)
>20	93 (47.94%)	59 (48.76%)
Drinking		
never	70 (36.08%)	26 (17.57%)
ever	124 (63.92%)	122 (82.43%)
Family history of CaP		
no	186 (95.88%)	146 (98.65%)
yes	8 (4.12%)	2 (1.35%)

Table 15. SNP analysis of PSCA gene and association analysis with prostate cancer risk

SNP	genotype	case	control	OR(uni)	adjusted OR (multi)	p-value
-----	----------	------	---------	---------	---------------------	---------

rs3736001	G/G	145(75.1%)	129(76.8%)			
	G/A	43(22.2%)	37(22.0%)	1.03	0.97	0.918
	A/A	5(2.59%)	2(1.19%)	2.22	4.83	0.098
	G/A+A/A	48(24.8%)	39(23.2%)	1.10	1.11	0.729
rs1045531	C/C	34(18.5%)	44(26.7%)			
	C/A	93(50.1%)	83(50.3%)	1.45	1.31	0.382
	A/A	57(31.0%)	38(23.0%)	1.94	1.99	0.050
	C/A+A/A	150(81.5%)	121(73.3%)	1.60	1.52	0.152

Table 16. Haplotype analysis (using Haploview 4.1)

	Haplotype frequencies			p ^a
	E(freq)	Case(n=386)	Control(n=336)	
Haplotype (1-12)				
CCCGAGGTCCGG	0.489	0.460	0.523	0.0897
TCTGGGACATAA	0.344	0.349	0.339	0.7887
TGTGGAACATAA	0.127	0.132	0.122	0.6851
TGTGGGACATAA	0.017	0.026	0.006	0.0370
CCCGAGGTACGG	0.012	0.020	0.003	0.0418
Haplotype (1-3, 5-12)				
CCCAGGTCCGG	0.491	0.463	0.523	0.1034
TCTGGACATAA	0.345	0.351	0.339	0.7450
TGTGAACATAA	0.127	0.132	0.122	0.6853
TGTGGACATAA	0.017	0.025	0.009	0.1037
CCCAGGTACGG	0.012	0.020	0.003	0.0455
Haplotype (2, 3, 6, 9)				
CCGC	0.492	0.462	0.526	0.0872
CTGA	0.344	0.348	0.339	0.8009
GTAA	0.129	0.135	0.122	0.6123
GTGA	0.017	0.025	0.009	0.1095
CCGA	0.014	0.022	0.003	0.0279
Haplotype (2, 5, 6, 9)				
CAGC	0.492	0.463	0.526	0.0876
CGGA	0.345	0.351	0.339	0.7450
GGAA	0.129	0.135	0.122	0.6122
GGGA	0.017	0.025	0.009	0.1037
CAGA	0.012	0.020	0.003	0.0455
Haplotype (2, 6, 9)				
CGC	0.479	0.443	0.519	0.0427

CGA	0.371	0.390	0.350	0.2700
GAA	0.129	0.135	0.122	0.6118
GGA	0.020	0.030	0.009	0.0499

2) Common variants of 8q24 연구개요 및 결과

Genome wide association study (GWAS)를 통해서 인종에 따라 8q24의 유전자의 genetic polymorphism 전립선암의 발생과 관계가 있음이 보고되고 있으며 한국인에서 이들의 관련성을 확인하고자 하였다. 조직학적으로 전립선암 (adenocarcinoma)으로 진단되어 근치적 전립선절제술을 시행한 194명의 환자군과 건강검진센터에 내원한 196명의 건강한 남성을 대조군으로 연구를 시행하였다. 구체적으로 rs16901979, rs6983267, and rs1447295 등의 8q24의 3가지 주요 single nucleotide polymorphisms (SNPs)을 SEQUENOM Mass Array system을 이용하여 유전자 분석을 시행하여 전립선암의 발생 사이의 관계를 분석하였다. 결과에서 rs1447295 SNP의 CA 혹은 AA, rs16901979 SNP의 CA 유전자형을 가진 경우에는 CC 유전자형에 비해 전립선암이 많이 발생하였다. Haplotype 분석 결과, [AGC]와 [CTA] haplotype을 가지는 경우 전립선암의 발생이 위험이 높았다 ([AGC] with adjusted OR, 1.79; 95% CI, 1.09-2.96; $p=0.022$; [CTA]withadjustedOR,5.17;95%CI,2.40-11.15; $p<0.001$). 본 연구를 통해 8q24의 유전자 변형은 한국인에서의 전립선암의 발생과 연관이 있음을 확인하였다.

Table 17. Frequency of 8q24 polymorphisms and association with prostate cancer risk

SNP	Genotype	Case (%)	Control (%)	Crude OR (95%CI)	P	Adjusted OR (95%CI) ^a	P	P _{trend} [†]
rs16901979	C/C	99 (51.0)	100 (59.2)	1.00		1.00		0.211
	C/A	81 (41.8)	57 (33.7)	1.44 (0.93-2.23)	0.106	1.69 (1.01-2.81)	0.045	
	A/A	14 (7.2)	12 (7.1)	1.18 (0.52-2.68)	0.695	1.04 (0.40-2.66)	0.939	
	C/A + A/A	95 (49.0)	69 (40.8)	1.39 (0.92-2.11)	0.121	1.56 (0.96-2.52)	0.073	
	C	279 (71.9)	257 (76.0)	1.00		1.00		
rs6983267	A	109 (28.1)	81 (24.0)	1.24 (0.89-1.73)	0.207	1.29 (0.88-1.90)	0.197	0.366
	T/T	56 (28.9)	51 (30.3)	1.00		1.00		
	G/T	92 (47.4)	86 (51.2)	0.97 (0.60-1.57)	0.915	0.93 (0.53-1.62)	0.799	
	G/G	46 (23.7)	31 (18.5)	1.35 (0.75-2.45)	0.319	1.55 (0.78-3.07)	0.210	
	G/T + G/G	138 (71.1)	117 (69.6)	1.07 (0.68-1.69)	0.756	1.08 (0.64-1.83)	0.761	
rs1447295	T	204 (52.6)	188 (56.0)	1.00		1.00		<0.001
	G	184 (47.4)	148 (44.0)	1.15 (0.85-1.54)	0.363	1.22 (0.87-1.70)	0.260	
	C/C	114 (59.1)	127 (75.6)	1.00		1.00		
	C/A	67 (34.7)	38 (22.6)	1.96 (1.23-3.15)	0.005	2.14 (1.23-3.72)	0.007	
	A/A	12 (6.2)	3 (1.8)	4.46 (1.23-16.19)	0.023	3.09 (0.72-13.28)	0.130	
rs1447295	C/A + A/A	79 (40.9)	41 (24.4)	2.15 (1.36-3.38)	0.001	2.22 (1.31-3.79)	0.003	
	C	295 (76.4)	292 (86.9)	1.00		1.00		
	A	91 (23.6)	44 (13.1)	2.05 (1.38-3.04)	<0.001	2.02 (1.28-3.21)	0.003	

^a Adjusted for age

[†] Cochran–Armitage trend test for the number of variant alleles

SNP, single nucleotide polymorphisms; OR, odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval;

3) AMACR genetic polymorphism 연구개요 및 결과

전립선암의 발생에 있어 지방산의 산화 과정에 관련하는 (R)-alpha-methyl-CoA racemase (AMACR)의 유전적 다형성 연구가 진행되어 왔으나 결과들이 일치하지 않으며 이는 인종적인 차이에 의한 것으로 생각하고 있다. 본 연구에서는 인종적으로 동일성을 나타내는 한국인을 대상으로 전립선암의 발생과 AMACR의 유전적 다형성의 관계를 알아보고자 하였다. 총 17개의 single nucleotide polymorphisms (SNPs)에 대해 SEQUENOM Mass Array system을 이용하여 유전자 분석을 시행하여 전립선암의 발생 사이의 관계를 분석하였다. 또한, 면역화학염색을 이용하여 암 조직에서의 AMACR의 발현여부를 확인하였다. 결과에서 rs2278008 (E277K)의 AG 혹은 GG 유전자형을 가지는 경우 전립선암의 발생 위험 감소되는 경향을 보였으며 minor G allele이 전립선암의 발생을 감소시키는 것으로 확인되었다 (Adjusted OR, 0.57; 95% CI, 0.35–0.93, *p*-value=0.025). 이러한 연관성은 암 조직에서 AMACR을 발현하는 전립선암의 경우 더욱 분명하였다 (Adjusted OR, 0.54; 95% CI, 0.32–0.91, *p*-value=0.021). rs2278008,rs34677,rs2287939,rs1094111,rs3195676으로 구성된 [GGCGG] haplotype을 가지는 경우 전립선암의 발생이 감소되는 경향을 보였다 (*p*-value=0.049). 본 연구를 통해 한국인에서 전립선암과 AMACR의 유전적 다형성 사이의 연관성이 확인하였으며 AMACR 유전적 다형성과 조직에서의 AMACR의 발현은 전립선암의 발생에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

Table 18. Frequency of AMACR (5q13) polymorphisms and association with prostate cancer risk

SNP	Genotype	Cases (%)	Controls (%)	adjusted OR	P
rs2278008	A/A	145 (74.7)	109 (64.9)	Ref.	
	A/G	47 (24.2)	56 (33.3)	0.51	0.0220
	G/G	2 (1.0)	3 (1.8)	0.42	0.3892
	A/G + G/G	49 (25.3)	59 (35.1)	0.51	0.0178
	A allele	337 (86.9)	274 (81.5)	Ref.	
	G allele	51 (13.1)	62 (18.5)	0.57	0.0251

rs34677	G/G	143 (73.7)	123 (73.2)	Ref.	
	G/T	46 (23.7)	43 (25.6)	1.27	0.4761
	T/T	5 (2.6)	2 (1.2)	1.81	0.5559
	G/T + T/T	51 (26.3)	45 (26.8)	1.30	0.4069
	G allele	332 (85.6)	289 (86.0)	Ref.	
T allele	56 (14.4)	47 (14.0)	1.30	0.3656	
rs2287939	C/C	149 (76.8)	124 (73.8)	Ref.	
	C/T	39 (20.1)	41 (24.4)	0.66	0.1935
	T/T	6 (3.1)	3 (1.8)	0.78	0.7681
	C/T + T/T	45 (23.2)	44 (26.2)	0.67	0.1938
	C allele	337 (86.9)	289 (86.0)	Ref.	
T allele	51 (13.1)	47 (14.0)	0.72	0.2268	
rs10941112	G/G	69 (35.6)	76 (45.2)	Ref.	
	G/A	96 (49.5)	66 (39.3)	1.52	0.1514
	A/A	29 (14.9)	26 (15.5)	1.24	0.5979
	G/A + A/A	125 (64.4)	92 (54.8)	1.44	0.1779
	G allele	234 (60.3)	218 (64.9)	Ref.	
A allele	154 (39.7)	118 (35.1)	1.21	0.3273	

SNP, single nucleotide polymorphisms; OR, odds ratio; CI, confidence interval, ^a Adjusted for age, smoking quantity, alcohol drinking and family history of prostate cancer, [†] Cochran-Armitage trend test for the number of variant alleles

4) NINJ1 genetic polymorphism 연구개요 및 결과

Cell adhesion과 신경손상 후 nerve regeneration에 관여하는 것으로 알려져 있는 nerve injury-induced protein 1 (NINJ1)은 9q22에 위치하고 최근 간세포암, 백혈병 및 방광암의 발생과 연관이 있는 것으로 알려져 종양 발생 관련 유전자로 관심을 받고 있다. 특히, NINJ1의 발현은 종양억제 유전자인 p53에 의해 영향을 받는 것으로 밝혀지고 있다. 현재까지 전립선암의 발생과 NINJ1 유전자의 다형성에 대한 연구 보고는 없어 본 연구를 통해 한국인에 있어 NINJ1 유전자의 genetic polymorphism 전립선암의 발생과 관계가 있음을 확인하고자 하였다. 조직학적으로 전립선암 (adenocarcinoma)으로 진단되어 근치적 전립선절제술을 시행한 383명의 환자군과 건강검진센터에 내원한 373명의 건강한 남성을 대조군으로 연구를 시행하였다. 총 26개의 NINJ1 유전자의 SNPs을 분석하였으며 최종 9개의 SNP (rs7033638, rs12238760, rs1127851, rs3750555, rs2275848, rs1419232)과 전립선암의 발생 사이의 연관성을 통계적으로 분석하였다. 전립선암의 발생과 통계적으로 의미있는

유전적 다형성을 확인할 수는 없었으나, 흥미롭게도 genotype이 가능했던 24개의 SNPs 중에 14의 SNP은 우리의 환자군과 대조군에서 monomorphic feature를 보여 외국인을 대상으로 이루어진 SNP 데이터베이스와는 다른 한국인에서의 유전적 특성을 확인할 수 있었다. 본 연구는 전립선암의 발생과 연관성이 있는 NINJ1 유전의 SNP을 확인할 수는 없었으나 전립선암의 발생에 있어 NINJ1 유전자의 유전적 다형성에 대한 최초의 연구로서 의미를 찾을 수 있으며 또한, 한국인에서의 NINJ1 유전자의 monomorphic feature를 확인하는 흥미로운 결과를 얻게 되었다.

Table 19. Frequency of NINJ1 polymorphisms and association with prostate cancer risk

SNP	Genotype	Cases (%)		Controls (%)		P_{trend}^{\dagger}	Adjusted OR (95%CI) ^a	
rs7033638	T/T	226	59.5	239	64.6	0.212	1.0	
	T/C	131	34.5	110	29.7		1.26	0.91-1.77
	C/C	23	6.0	21	5.7	0.149	1.38	0.72-2.66
	T/C + C/C	154	40.5	131	35.4		1.29	0.93-1.77
rs12238760	G/G	226	59.5	242	64.9	0.164	1.0	
	G/A	131	34.5	111	29.8		1.24	0.88-1.73
	A/A	23	6.0	20	5.3	0.126	1.47	0.76-2.85
	G/A + A/A	154	40.5	131	35.1		1.29	0.94-1.78
rs1127857	C/C	381	99.7	368	100	1.00	1.0	
	C/G	1	0.3	0	0		-	
rs1127851	A/A	319	84.0	304	81.5	0.311	1.0	
	A/T	59	15.5	65	17.4		0.83	0.54-1.25
	T/T	2	0.5	4	1.1	0.375	0.46	0.07-2.91
	A/T + T/T	61	16.0	69	18.5		0.81	0.54-1.23
rs3750555	G/G	317	83.6	302	81.4	0.299	1.0	
	G/A	61	16.1	65	17.5		0.86	0.57-1.30
	A/A	1	0.3	4	1.1	0.419	0.18	0.02-1.82
	G/A + A/A	62	16.4	69	18.6		0.83	0.55-1.24
rs2275848	T/T	316	84.5	304	82.4	0.365	1.0	
	G/T	56	15.0	61	16.5		0.82	0.54-1.26
	G/G	2	0.5	4	1.1	0.439	0.46	0.07-2.92
	G/T + G/G	58	15.5	65	17.6		0.81	0.53-1.24
rs13286331	C/C	377	99.7	372	100	1.00	1.0	
	A/C	1	0.3	0	0		-	
rs1419232	A/A	282	74.4	275	74.1	0.593	1.0	
	C/A	92	24.3	85	22.9		1.05	0.73-1.51
	C/C	5	1.3	11	3.0		0.42	0.13-1.31

	C/A+ C/C	97	25.6	96	25.9	0.929	0.98	0.69-1.40
rs117006920	C/C	377	98.7	372	99.7	0.230	1.0	
	C/T	5	1.3	1	0.3		2.95	0.30-28.51

† calculated from Cochran-Armitage trend test

SNP, single nucleotide polymorphisms; OR, odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval;

^a Adjusted for age, alcohol consumption habit, BMI and family history of prostate cancer

5) POU5F1P1 genetic polymorphism 연구개요 및 결과

Genome wide association study (GWAS)를 통해서 8q24에 위치하고 있는 유전자들은 전립선암의 발생과 중요한 연관성이 있음이 밝혀졌다. POU5F1P1 유전자는 8q24.21에 위치하고 있으며 transcription factor로 알려져 있는 POU5F1 유전자와 high homology를 보인다. 현재까지 POU5F1은 자궁경부암, 폐암, 갑상선암, 식도암, 대장암 및 방광암에 발현이 증가되어 있는 것으로 알려져 있어 high homology를 가지는 pseudogene인 POU5F1P1도 여러 암종의 발생에 관여할 수 있는 이론적 가능성이 대두되었다. 면역조직학적 연구를 통해 POU5F1P1의 발현이 전립선암을 포함한 여러 종류의 암에서 보고되었다. 현재까지 소수의 유전적 연구를 통해 POU5F1P1 유전자의 다형성이 전립선암과의 발생과 연관성이 있음을 보고하고 있으나 연구에 포함된 대조군과 환자군의 수가 적고 많은 연구에서는 조직학적으로 전립선암 (adenocarcinoma)으로 진단되어 근치적 전립선절제술을 시행한 383명의 환자군과 건강검진센터에 내원한 373명의 건강한 남성을 대조군으로 연구를 시행하였다. 총 30개의 POU5F1P1 유전자의 SNP를 선정하였으며 최종적으로 18개의 SNP에 대해 통계적인 분석을 시행하였다. Genotyping에서 polymorphic feature를 보이는 6개의 SNP과 전립선암 발생의 연관성을 분석한 결과는 Table 6과 같다. 전립선암의 발생과 통계적으로 의미있는 유전적 다형성을 확인할 수는 없었으나, 흥미롭게도 **genotype**이 가능했던 18개의 SNPs 중에 12의 SNP은 NINJ1의 유전자 분석 결과와 유사하게 우리의 환자군과 대조군에서 **monomorphic feature**를 보여 외국인을 대상으로 이루어진 SNP 데이터베이스와는 다른 한국인에서의 유전적 특성을 확인할 수 있었다. 본 연구는 전립선암의 발생과 연관성이 있는 POU5F1P1 유전자의 polymorphism을 확인할 수는 없었으나 한국인에서의 POU5F1P1 유전자의 다형성을 처음으로 연구하여 보고하고 또한, SNP DB와는 다르게 한국인에서는 많은 monomorphic feature를 확인하는 의미 있는 결과를 얻게 되었다.

Table 20. Frequency of POU5F1P1 polymorphisms and association with prostate cancer risk

SNP	Genotype	Cases (%)	Controls (%)	P_{trend}^{\dagger}	Adjusted Crude OR(95%CI)
rs871135	T/T	113 29.7	115 30.8	0.349	1.0

	G/T	188	49.3	193	51.8		1.13	0.76-1.67
	G/G	80	21.0	65	17.4		1.01	0.77-1.34
rs4871022	T/T	114	30.0	115	31.0	0.318	1.0	
	T/C	186	48.9	193	52.0		0.91	0.64-1.29
	C/C	80	21.1	63	17.0		1.28	0.81-2.01
rs185974252	A/A	379	99.7	370	99.5	0.985	1.0	
	C/A	1	0.3	2	0.5		0.36	0.02-5.43
rs4871789	G/G	112	29.5	114	30.6	0.321	1.0	
	G/A	118	49.5	194	52.2		0.90	0.63-1.28
	A/A	80	21.0	64	17.2		1.25	0.79-1.96
rs75427380	C/C	382	100.0	370	99.7	0.988	1.0	
	C/G	0	0.0	1	0.3		-	
rs77932649	G/A	274	72.3	280	75.1	0.435	1.0	
	G/G	105	27.7	93	24.9		1.21	0.85-1.71
rs13273814	C/A	377	98.7	368	99.2	0.754	1.0	
	C/C	5	1.3	3	0.8		2.02	0.45-9.06
rs13274084	A/A	306	80.1	300	81.1	0.805	1.0	
	A/G	76	19.9	70	18.9		1.09	0.74-1.61
rs114470577	G/A	281	73.9	274	75.7	0.644	1.0	
	G/G	99	26.1	88	24.3		1.10	0.77-1.58
rs148151234	C/G	283	74.5	287	76.9	0.481	1.0	
	G/G	97	25.5	86	23.1		1.15	0.80-1.65
rs7002225	G/C	280	74.1	287	77.4	0.336	1.0	
	G/G	98	25.9	84	22.6		1.20	0.83-1.72
rs6985419	C/C	191	50.5	199	53.6	0.235	1.0	
	C/T	157	41.5	151	40.7		0.97	0.70-1.33
	T/T	30	8.0	21	5.7		1.45	0.76-2.77

[†] calculated from Cochran-Armitage trend test

SNP, single nucleotide polymorphisms; OR, odds ratio; 95% CI, 95% confidence interval;

^a Adjusted for age, alcohol consumption habit, BMI and family history of prostate cancer

6) CVA1 & eNOS genetic polymorphism 연구개요 및 결과

CAV and eNOS gene과 연관된 4개의 SNPs 연구에서는 의미 있는 genetic polymorphism은 관찰되지 않았다.

Table 21. Frequency of CVA1 and eNOS polymorphisms and association with prostate cancer risk

SNP	Genotype	Cases (%)	Controls (%)	Adjusted OR (95%CI) ^a	p-value
rs3807990	C/C	82 (42.3)	72 (42.9)	1	
(7q31, CAV1)	C/T	89 (45.9)	80 (47.6)	0.88 (0.53–1.47)	0.634
	T/T	23 (11.9)	16 (9.5)	1.31 (0.57–3.00)	0.524
	C/T + T/T	112 (57.7)	96 (57.1)	0.95 (0.59–1.54)	0.834
rs6867	G/G	190 (97.9)	167 (99.4)	1	
(7q31, CAV1)	G/A	4 (2.1)	1 (0.6)	3.06 (0.29–32.03)	0.352
	A/A	0 (0.0)	0 (0.0)	–	
<hr/>					
rs2070744	T/T	152 (78.4)	129 (76.8)	1	
(eNOS)	C/T	41 (21.1)	37 (22.0)	0.95 (0.53–1.70)	0.868
	C/C	1 (0.5)	2 (1.2)	0.82 (0.07–9.28)	0.872
	C/T + C/C	42 (21.7)	39 (23.2)	0.95 (0.54–1.67)	0.847
rs1799983	G/G	157 (81.4)	142 (84.5)	1	
(eNOS)	G/T	35 (18.1)	26 (15.5)	1.01 (0.53–1.93)	0.966
	T/T	1 (0.5)	0 (0.0)	–	
	G/T + T/T	36 (18.7)	26 (15.5)	1.03 (0.54–1.95)	0.936
<hr/>					
Haplotype					
rs3807990	rs6867				
	CG	253 (65.2)	225 (66.57)		
	TG	131 (33.8)	112 (33.14)	1.02(0.71 –1.45)	0.929
	TA	4 (1.0)	1 (0.30)	3.07(0.29 –32.10)	0.349
<hr/>					
rs2070744	rs1799983				

TG	308 (79.4)	271 (80.2)		
CG	43 (11.1)	41 (12.1)	0.96(0.57 -1.62)	0.866
TT	37 (9.5)	26 (7.7)	1.04(0.56 -1.91)	0.907

3. 연구결과 고찰 및 결론

전립선암은 중앙암등록통계 자료에 의하면 한국인의 남성 암중 5번째 많이 발생하는 암으로 발생의 증가가 매우 빠른 대표적인 암종이다. PSA의 도입으로 새롭게 진단되는 전립선암 중 많은 부분이 국소 전립선암이 많아지고 있어 치료 후에도 장기 생존을 기대할 수 있다. 그러나, 여전히 PSA가 높고 분화도가 나쁜 고위험군의 전립선암이나 국소 진행성 전립선암이 많은 부분을 차지하고 있으며 초기의 전립선암이라 하더라도 치료 후 다양한 임상 양상을 보이는 경우가 많다. 전립선암의 치료 방법을 결정하는 전통적인 임상 인자로서 상기 언급한 PSA, Gleason score 그리고 임상병기가 대표적이다. 그러나 다양한 임상 경과를 예측하기에는 한계가 있어 전립선암의 임상 양상을 예측하기 위한 여러 생물학적 표지자에 대한 연구가 지속되어 왔다. 그 중 하나가 혈액에서 순환하는 암세포(CTC)를 검출하려는 시도이다.

현재 CTC의 검출은 전립선암 뿐만 아니라 다양한 암종에서 주요 연구 주제로 관심을 모으고 있다. 이러한 CTC의 유무를 진단하여 영상학적 진단방법으로는 확인할 수 없는 암의 진행 가능성을 예측할 뿐만 아니라 검출한 CTC의 표현형을 확인함으로써 환자 맞춤형 치료에 적용할 수 있다는 가능성이 제시되고 있다. 최근에는 진행성 병변 뿐만 아니라 국소 단계에서도 CTC를 검출하고자 하는 연구가 진행되고 있어 초기 전립선암의 맞춤 치료를 위해 수술이나 방사선 치료와 같은 적극적 치료 및 적극적 대기 관찰 요법의 선택에 도움을 줄 것이라고 기대하고 있다.

연구자들은 선행연구를 통해 전립선암 환자의 말초혈액에서 PSCA mRNA를 표현하는 전립선암세포를 검출하여 전립선암의 병기, 분화도와 연관이 있음을 확인하였으며 근치적 절제술 후 생화학적 재발을 예측하는 인자로서의 가치를 확인할 수 있었다.(Joung JY, Lee KH et al, Int J Urol 2008) 특히, 고위험군 국소 전립선암 환자에서 독립적인 예후 인자임을 확인함으로써 치료 후 재발의 위험이 높으며 다양한 임상 경과를 보이는 고위험군 환자에서 환자 맞춤 치료에 적용할 수 있는 가능성을 확인하는 계기가 되었다.(Joung JY, Lee KH et al, J Surg Oncol 2010) 수술 전 환자의 혈액에서 PSCA를 표현하는 CTC가 검출된 경우에는 수술 단일 요법으로 재발의 위험이 높아 수술 전 후 추가 약물 요법이나 방사선 등의 병용요법을 적용함으로써 치료 효과를 높일 수 있다는 이론적 근거가 될 수 있다. PSMA에 역시 전립선암에 특이도가 높은 종양 표지자로 다

양한 면역 치료, 표적 치료에 있어 전립선암의 target molecule로 적용되고 있다. 본 연구에서도 PSMA를 표현하는 CTC의 검출은 전립선암의 치료 후 재발과 불량한 예후를 보이는 임상-병리학적 인자와 연관성을 보였다.(Joung JY, Lee KH et al, J Korea Med Sci 2010)

그러나, 생물학적 표지자를 이용한 이러한 정성적인 검출 방법은 몇가지 제한점을 가지고 있다. 첫째, 말초혈액에서의 CTC를 직접 검출하는 방법이 아니라 채혈한 혈액 내에 전립선암 특이 표지자의 mRNA가 존재 여부를 확인하는 방법으로 직접 CTC를 분리하여 시각적으로 확인하고 표현형을 분석할 수가 없으며 또한 CTC 검출을 정량적으로 확인할 수가 없다. 둘째, RT-PCR 방법을 이용한 CTC 검출 방법은 실험 기술적인 오차를 지니고 있으며 높은 민감도를 보여 false-positive result를 초래할 수 있다는 제한점이 대두되고 있다. 셋째, 치료 후의 CTC 변화에 대한 비교 연구가 없어 CTC 검출의 독립적인 의의를 해석하는데 한계가 있음. 따라서 치료 후의 CTC 검출 변화에 대한 추가 연구가 필요하며 선행연구로 확인된 CTC 검출의 임상적 유용성을 새로운 방법으로 CTC 검출하는 함께 병행하여 CTC의 정성적 및 정량적 검출 방법을 포함하는 추가적인 연구가 필요함. 실제 CTC는 말초혈액에서 10억 개의 정상 혈액 세포당 1개 정도로 매우 들물게 존재하여(Ross AA et al. Blood 1993) 이를 검출하기 위해서는 tumor cell enrichment 과정이 반드시 필요하다. 따라서 향후 연구 계획으로 혈액에서의 CTC의 정성적 및 정량적 검출하고 검출된 CTC의 viability와 phenotype 분석함으로써 CTC의 생물학적 특성을 파악할 수 있을 것으로 기대하며 이를 바탕으로 전립선암 환자의 CTC 검출에 따른 환자 맞춤 치료의 중요한 근거로 적용할 수 있을 것으로 기대한다.

전립선암은 서구에서는 피부암을 제외하고는 가장 흔한 남성암이며 폐암 다음으로 주된 사망원인이 되는 암종이다. 그러나 서양에 비해 한국을 포함한 아시아 국가에서는 전립선암의 발생율은 매우 낮은 것으로 인식되고 있으나 **최근 빠르게 발생 빈도가 증가하는 암**으로 조만간 서구와 유사하게 국내에서도 가장 흔한 남성암이 될 것으로 예상되고 있다. 서양에서는 GWAS 연구를 통해 전립선암을 포함한 주요 암종에 대한 유전적 특성을 연구하려는 시도가 계속되어 왔으며 실제 전립선암의 발생과 관련이 있는 많은 유전적 특성이 알려져 있다. 이에 비해 한국인의 전립선암에 대해서는 이러한 연구가 매우 들물었다. 본 연구 (Case-Control study)를 통해 전립선암 관련 유전자로 알려져 있는 몇 가지 candidate gene을 대상으로 유전적 이형성을 연구하는 가장 일반적인 방법인 SNP 연구를 시행하였으며 여러 후보 유전자 중 PSCA gene, common variants of 8q24, AMACR gene의 SNPs가 한국인에 있어 전립선암의 발생과 연관성이 있음을 확인할 수 있었다.(Joung JY, Lee KH et al, BJU Int 2011, Biomed Res Int 2012, J Urol 2010)

그러나, 본 연구는 서양의 대규모 연구인 GWAS와는 달리 candidate gene을 이용한 연관성 연구라서 몇가지 한계를 가지고 있다. 첫째, 비교적 대상 환자와 대조군의 수가 적어 연구의 power에 제한이 있어 본 연구 결과를 한국인 모두에 적용하여 일반

화하는 것은 주의해야 한다. 둘째, 대조군과 환자군의 사회학적 특성에 있어 환자군이 대조군에 비해서 나이가 많고 알콜 섭취가 의미있게 적다는 차이가 있어 이러한 인자들이 전립선암의 발생에 영향을 미칠 수 있다는 가능성을 배제할 수가 없다. 그러나 다변량 분석을 통해 이러한 차이를 보이는 특성을 보정을 하였기 때문에 통계적으로는 문제가 없을 것으로 생각된다. 더욱이 본 연구의 강점으로는, 다양한 인종을 대상으로 이루어진 서양의 연구와는 달리 인종적으로는 한국인이라는 단일 국가에서 단일 인종에서 비롯된 ethnically homogenous characteristics를 보이는 특성이 있기 때문에 유전적 배경을 연구하는 면에서는 좀 더 적절한 연구 대상이라고 생각되며 또한, 유전적 배경에 대한 연구가 거의 전무했던 한국인의 전립선암에서의 의미 있는 결과로 생각된다. 향후 한국인을 대상으로하는 GWAS 연구를 통해 유전적 다형성을 확인함으로써 향후 한국인에서의 전립선암의 치료 및 예방에 개인의 전립선암에 대한 유전적 특성을 미리 확인함으로써 개인별 치료 (personalized medicine)에 이용할 수 있을 것으로 기대한다.

4. 연구성과 및 목표달성도

(1) 연구성과

가. 국내 및 국제 전문학술지 논문 게재 및 신청

논문명	저자 (저자구분 ¹⁾)	저널명(I.F.)	Year; Vol(No):Page	구분 ²⁾	지원과제번호 ³⁾
Treatment outcome of docetaxel plus prednisolone for metastatic castration resistant prostate cancer in Korea	교신저자	J Cancer Research Therapeutics(0.949)	2014;10(2); 251-257	국외 SCI	
Antitumor activity of the c-Myc inhibitor KSI-3716 in a gemcitabine-resistant bladder cancer	공동저자	Oncotarget (6.627)	2014;5(2);326-337	국외 SCI-E	
Pelvic Floor Musculature and Bladder Neck Changes Before and After Continence Recovery After Radical Prostatectomy in Pelvic MRI	공동저자	JMRI(2.788)	2013;39(6);1431-1435	국외 SCI	
Experience of successful treatment for an intractable advanced ureter cancer with extraureteral extension using omental flap transposition: A case report	공동저자	Biomedical Journals	2014	국외	
표적치료를 받는 전이신장암 환자에서의 원발 표적 신장암의	공동저자	대한비뇨기	2014	국내	

최대 크기 감소에 대한 예측인자 연구		종양학회지			
A case report of partial nephrectomy of mucinous cystadenocarcinoma in kidney and its literature review	공동저자	Cancer reasarch and treatment jouornal	2014	국외	
Genetic Variations of AMACR are Associated with Sporadic Prostate Cancer Risk in Ethnically Homogenous Koreans	교신저자	BioMed Res Int (2.880)	2013;1-11	국외SCI	1210110
Validation of the MSKCC and Heng Risk Criteria Models for Predicting Survival in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma Treated with Sunitinib	공동저자	Ann Surg Oncol(4.12)	2013;20(13); 4397-4404	국외SCI	
Overestimation of Nuclear Matrix Protein 22 in Concentrated Urine	교신저자	Urology(2.424)	2013;82(5); 1059-64	국외SCI	1130960
Use of a hyaluronic acid-carboxymethylcellulose adhesion barrier on the neurovascular bundle and prostatic bed to facilitate earlier recovery of erectile function after robotic prostatectomy: an initial experience	공동저자	J Endourol(2.074)	2013;27(10); 1230-5	국외SCI	
Detection of Human Papillomavirus Infection and p16 Immunohistochemistry Expression in Bladder Cancer with Squamous Differentiation	공동저자	PLOS one(3.534)	2014;9(3);e93525-e93525	국외SCI-E	
Association of common variations of 8q24 with the risk of prostate cancer in Koreans and a review of the Asian population	이강현 (교신)	BJU Int (2.844)	2012; 110; E318~E325	국외SCI	0810220 (후속과제)
Role of PLND in prostate cancer treatment	교신저자	Korean Journal of Urology	2011;52: 437-45	국내	
Prostate volume has prognostic value only in pathologic T2 radical prostatectomy specimens	교신저자	Journal of Korean Medical Science(0.832)	2011;26; 807-13	국내SCI	

논문명	저자 (저자구분 ¹⁾)	저널명(I.F.)	Year; Vol(No):Page	구분 ²⁾	지원과제번호 ³⁾
Paclitaxel and cisplatin chemotherapy for metastatic urothelial carcinoma after failure of two courses of platinum-based regimens	교신저자	International Journal of Urology(1.46)	2011;18(5):350-57	국외 SCI	1010850
Association and Haplotype Analysis of Prostate Stem Cell Antigen with Prostate Cancer Risk	교신저자	Journal of Urology(3.862)	2011;185(6)2112-8	국외 SCI	0810220 (후속과제)
A Prospective Evaluation of Conventional Cystography for Detection of Urine Leakage at the Vesicourethral Anastomosis Site after Radical Prostatectomy Based on Computed Tomography	교신저자	Clinical Radiology(1.645)	2011;66(3)251-6	국외 SCI	
The development of the conditionally replication-competent adenovirus: replacement of E4 orf1-4 region by exogenous gene	공동저자	J Gene Med(2.968)	2010;12(5):453-62	국외 SCI	
Prostate Stem Cell Antigen mRNA in Peripheral Blood as a Potential Predictor of Biochemical Recurrence in High-Risk Prostate Cancer	교신저자	J Surg Oncol(2.478)	2009;101(2):145-8	국외 SCI	
Docetaxel chemotherapy of Korean patients with hormone- refractory prostate cancer:comparative analysis between 1st-line and 2nd-line docetaxel.	교신저자	Yonsei Med J(0.781)	2008;49(5):775-82	국외 SCI	
Results of repeated transurethral resection for a second opinion in patients referred for nonmuscle invasive bladder cancer: the referral cancer center experience and review of the literature.	교신저자	J Endourol(1.799)	2008;22(12):2699-704	국외 SCI	
Factors influencing pain during transrectal ultrasonography-guided prostate biopsy.	교신저자	Prostate Cancer Prostatic Dis(2.024)	2008;11(2):139-42	국외 SCI	
Methotrexate, vinblastine, doxorubicin and cisplatin combination regimen as salvage chemotherapy for patients with advanced or metastatic transitional cell carcinoma after failure of gemcitabine and cisplatin chemotherapy.	공동저자	Br J Cancer(4.635)	2008;98(1):86-90	국외 SCI	
Percent free prostate specific antigen does not enhance the specificity of total prostate specific antigen for the detection of prostate cancer in Korean men 50 to 65 years old: a prospective multicenter study.	교신저자	J Urol(4.053)	2008;179(1):111-6	국외 SCI	
Clinical value of PTEN in patients with superficial bladder cancer.	교신저자	Urol Int(0.82)	2008;80(3):264-9	국외 SCI	

논문명	저자 (저자구분 ¹⁾)	저널명(I.F.)	Year; Vol(No):Page	구분 ²⁾	지원과제번호 ³⁾
Pulmonary metastasis from renal cell carcinoma: characterization using contrast-enhanced CT attenuation value measurements.	이강현(공동)	J Comput Assist Tomogr(1.448)	2009 Jan-Feb 33(1):54-7	국외 SCI	없음
Lymphovascular Invasion in Transurethral Resection Specimens as Predictor of Progression and Metastasis in Patients With Newly Diagnosed T1 Bladder Urothelial Cancer.	이 강 현 (교신)	J Urol (4.053)	2009 Dec 182: 2625-31	국외 SCI	0810220
Prostate Stem Cell Antigen mRNA in Peripheral Blood as a Potential Predictor of Biochemical Recurrence in High-Risk Prostate Cancer	이 강 현 (교신)	J Surg Oncol 2.478	2009 Dec 101(2):145-8	국외 SCI	0810220
The development of the conditionally replication-competent adenovirus: replacement of E4 orf1-4 region by exogenous gene	이강현(공동)	J Gene Med 2.968	2010 April 12(5): 453-62	국외 SCI	1101503
Pretreatment assessment of tumor enhancement on contrast-enhanced computed tomography as a potential predictor of treatment outcome in metastatic renal cell carcinoma patients receiving antiangiogenic therapy	이강현(공동)	Cancer 5.418	2010 116(10): 2332-42	국외 SCI	없음
Renal safety and efficacy of cisplatin-based chemotherapy in patients with a solitary kidney after nephroureterectomy for urothelial carcinoma of the upper urinary tract	이 강 현 (교신)	Cancer Chemother Pharmacol 2.654	2010 April	국외 SCI	0810220
Prognostic Value of p53 and Ki-67 Expression in Intermediate-risk Patients With Nonmuscle-invasive Bladder Cancer Receiving Adjuvant Intravesical Mitomycin C Therapy	이 강 현 (교신)	Urology 2.365	2010 April	국외 SCI	0810220
Prostate Specific Membrane Antigen mRNA in Blood as a Potential Predictor of Biochemical Recurrence after Radical Prostatectomy	이 강 현 (교신)	JKMS 0.838	2010 February 25: 1291-5	국내 SCI	0810220
A Prospective Evaluation of Conventional Cystography for Detection of Urine Leakage at the Vesicourethral Anastomosis Site after Radical Prostatectomy Based on Computed Tomography	이 강 현 (교신)	Clinical Radiology 1.645	2010, On-line	국외 SCI	0810220
Incidental prostate cancer detected by cystoprostatectomy in Korean men	이 강 현 (교신)	Urology (2.134)	2009; 73: 153-157	국외 SCI	0510200 (후속과제)
Pulmonary metastasis from renal cell carcinoma: Characterization using contrast enhanced CT attenuation value measurements	이강현(공동)	J Comput Assist Tomogr (1.509)	2009; 33: 54-57	국외 SCI	없음
Lymphovascular Invasion on	이강현	J Urol(3.952)	2009 Oct 15	국외SC	없음

Transurethral Resection Specimen as a Predictor of Progression and Metastasis in Patients with Newly Diagnosed T1 Urothelial Carcinoma of the Bladder	(교신)		(Epub ahead of print)	I	
Single institutional experience of bladder-preserving trimodality treatment for muscle invasive bladder cancer	이 강 현 (교신)	JKMS (0.824)	2008; 23: 598-603	국내 SCI	0510200 (후속과제)
Docetaxel Chemotherapy of Korean Patients with Hormonerefractory Prostate Cancer : Comparative Analysis between 1st-line and 2nd-line Docetaxel	이강현 (교신)	YMJ (0.781)	2008;49(5): 775-82	국내 SCIE	0510200 (후속과제)
Epidermal growth factor receptor as predicting factor on biochemical failure after radical prostatectomy: A prospective study	이강현 (교신)	J Korean Urology	2008(accepted)	국내	0510200 (후속과제)
Identification of Immunohistochemical Factors that Predict the Synchronous or Metachronous Development of Bladder Tumors in Patients with Upper Urinary Tract Tumors	이 강 현 (교신)	Urol Int (0.82)	2008; 81(3): 306-11	국외 SCIE	0510200 (후속과제)
Clinical Value of PTEN in Patients with Superficial Bladder Cancer	이 강 현 (교신)	Urol Int (0.82)	2008; 80(3):264-9	국외 SCIE	0110150
RESULTS OF REPEAT TRANSURETHRAL RESECTION FOR A SECOND OPINION IN PATIENTS REFERRED FOR NON-MUSCLE INVASIVE BLADDER CANCER: THE REFERRAL CANCER CENTER EXPERIENCE AND REVIEW OF THE LITERATURE	이강현 (교신)	J Endourology (1.779)	2008: 22 In press	국외 SCI	0710330
Percent free prostate specific antigen does not enhance the specificity of total prostate specific antigen for the detection of prostate cancer in Korean men 50 to 65 years old: a prospective multicenter study.	이 강 현 (교신)	Journal of Urology (4.053)	2008; 179:111-116	국외 SCI	없음
Methotrexate, vinblastine, doxorubicin and cisplatin combination regimen as salvage chemotherapy for patients with advanced or metastatic transitional cell carcinoma after failure of gemcitabine and cisplatin chemotherapy.	이 강 현 (공동)	Br J Cancer (4.635)	2008; 98:89-90	국외 SCI	없음
The Efficacy of Transureteroureterostomy for Ureteral Reconstruction during Surgery for a Non-Urologic Pelvic Malignancy	이 강 현 (공동)	J Sug Oncol (2.384)	2008; 98(1): 49-53	국외 SCI	없음

Factors influencing pain during transrectal ultrasonography-guided prostate biopsy	이강현 (교신)	Prostate Cancer and Prostatic Disease (2024)	2008; 11(2):139-42	국외 SCI-E	없음
--	-------------	--	-----------------------	-------------	----

1) 저자구분 : 교신, 제1, 공동

2) 구분 : 국내, 국내 SCI, 국내 SCIE, 국외, 국외SCI, 국외SCIE 등

3) 지원과제번호(Acknowledgement)

- 과제번호를 연차 표시(-1, -2, -3 등)를 생략하고 7자리로 기재하고, 과제와 관련성은 있으나 불가피하게 Acknowledgement가 누락된 경우에는 '없음'으로 기재

나. 국내 및 국제 학술대회 논문 발표

논문명	저자	학술대회명	지역 ¹⁾	지원과제번호
전이 신장암에서 전신 치료제 치료 결과에 대한 국립암센터 경험 보고	이강현 (공동)	대한비뇨기과학회, 2014	국내	
전이 신장암에 대한 표적치료에서 극단적 예후를 보이는 환자들의 특징 및 예후인자에 대한 고찰	이강현 (공동)	대한비뇨기과학회, 2014	국내	
Clinicopathologic features and risk stratification of concomitant prostate cancer found in specimens removed by radical cystoprostatectomy: a prospective study using mapping technique of prostate specimen	이강현 (교신)	Societe International Urology, 2014	국외	
Primary renal tumor burden with its necrosis and its tumor vascularity are independent prognostic factors in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with VEGF-targeted therapy	이강현 (공동)	Societe International Urology, 2014	국외	
Overexpression of ERG is associated with favorable outcome of low biochemical recurrence in prostate cancer	이강현 (교신)	Societe International Urology, 2014	국외	

논문명	저자	학술대회명	지역 ¹⁾	지원과제번호
Poster ERG의 과발현과 근치적 전립선 수술후 발생하는 전립선암의 생화학적 재발과의 유의한 상관 관계	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회, 2013	국내	
병리적 국소진행성 전립선 암 환자의 근치적 전립선 적출 수술후 질제연에 미치는 영향인자에 관한 연구: 출혈량 및 30% 이상의 중앙 부피의 중요성	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회, 2013	국내	
남성 호르몬 억제요법 후 근치적 전립선 절제술에서 확인된 pT0 전립선암의 예후	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회, 2013	국내	
농축뇨에서의 NMP22 결과의 과대평가	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회, 2013	국내	
Bisphosphonate-related Osteonecrosis of the Jaw in Cancer Patients: National Cancer Center's Experience	이강현 (교신)	대한비뇨기종양학회,2013	국내	
Hexvix 방광내 주입을 이용한 방광암의 광역학적진단: 전향적 연구	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회, 2012	국내	1010850
차세대염기서열분석법을 이용한 한국인 전립선암 유전자융합(gene fusions)연구	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회, 2012	국내	
AMACR genotype is associated with risk of sporadic prostate cancer in Korean men	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회, 2012	국내	
Adjuvant Intravesical Instillation for Primary T1G3 Bladder Cancer: BCG versus MMC in Korea	이강현 (교신)	한일비뇨기과학회	국내	1010850
Prognostic Value of AMACR, PSMA, PSCA, EGFR, and Bcl-2 in patients undergoing Radical Prostatectomy : A Study with Objective Staining Score of Tissue Microarray	이강현(교신 저자)	SIU, 2011	국외	
DIFFERENCES IN THE PROGNOSTIC VALUE OF THE PROSTATE VOLUME, TUMOR VOLUME, AND TUMOR PERCENTAGE BETWEEN PATHOLOGIC T2 AND T3 RADICAL PROSTATECTOMY SPECIMENS	이강현 (교신)	Controversy in urology 2011	국외	없음
방광암 세포주와 정위방광암 모델에서 c-Myc 저해제의 효과	이강현 (공동)	대한비뇨기과학회 2011	국내	없음
표적치료 시대의 전이성 신세포암 환자에 대한 새로운 예후인자: FDG-PET/CT를 통한 대사중양부하	이강현 (공동)	대한비뇨기과학회 2011	국내	없음
18F FDG-PET/CT를 이용한 전립선암의 전이 및 재발 병소 발견에 대한 연구	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회 2011	국내	0710330
일차성 T1G3 방광암의 예후인자: 면역화학염색을 기반으로 한 연구	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회 2011	국내	1010850

논문명	저자	학술대회명	지역 ¹⁾	지원과제번호
근치적 방광절제술 후 추적관찰에서 발생한 요관암 1례	이강현 (교신)	대한비뇨기종양학회,2010	국내	없음
후복막에 재발한 혼합성 지방육종 1례	이강현 (교신)	대한비뇨기종양학회,2010	국내	없음
The association of Prostate Stem Cell Antigen SNP with Prostate Cancer Risk	이강현 (교신)	대한비뇨기종양학회,2010	국내	0810220
Bcl-2 as a Predicting Factor on Biochemical Recurrence after Radical Prostatectomy: A Prospective Study	이강현 (교신)	2010 유럽비뇨기과학회	국외	0810220
Cardiovascular and renal toxicity of sunitinib and sorafenib in patients with metastatic renal cell carcinoma	이강현 (공동)	Controversy in urology 2010	국외	없음
병리학적 T2, T3군에서 전립선 용적, 전립선내 종양 용적, 전립선내 종양 비율의 예후적 가치	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회 2010	국내	0810220
임상적 T1 병기의 전립선암의 PET 영상에서 11C-acetate 섭취의 의미: 초기연구	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회 2010	국내	0710330
근치적 전립선적출술 후 생화학적 재발의 예측인자로서 다섯 가지 생화학적 표지자의 발현: 염색강도와 구역비율을 이용한 연구	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회 2010	국내	0810220
방광-전립선 절제술의 검체에서 우연히 발견된 전립선암의 특성	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회 2010	국내	0810220
8q24 Genotype is Associated with Risk of Prostate Cancer in Korean Men	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회 2010	국내	0810220
Prostate Stem Cell Antigen mRNA in Peripheral Blood as a Potential Predictor of Biochemical Recurrence after Radical Prostatectomy	이강현 (교신)	2009 유럽비뇨기과학회	국외	0810220
Lymphovascular Invasion on Transurethral Resection Specimen as a Predictor of Progression and Metastasis in Patients with Newly Diagnosed T1 Urothelial Carcinoma of the Bladder	이강현 (교신)	2009 유럽비뇨기과학회	국외	없음
Value of PET/CT for Intraprostatic Localization of Prostate Cancer: Prospective Intra-patient Comparison of MR Imaging, 18F-FDG PET/CT, 11C-acetate PET/CT Using Histopathologic Analysis	이강현 (교신)	2009 유럽비뇨기과학회	국외	0710330
전립선암의 진단을 위한 양전자방출단층촬영/자기공명영상 융합 영상 기법의 개발에 관한 초기 연구	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회 추계학술대회 2009	국내	0710330
근치적 전립선절제술 후 재발의 예측인자로서	이강현	대한비뇨기과학회	국내	0810220

Prostate Specific Membrane Antigen의 유용성	(교신)	추계학술대회 2009		
상부요로 이행세포암으로 신요관적출술 후 단일신 상태에서 시행한 씨스플라틴 기반의 항암화학요법이 신기능에 미치는 영향	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회 추계학술대회 2009	국내	없음
근치적 전립선적출술 후 생화학적 재발의 예측인자로서 Bcl-2의 발현: 전향적 연구	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회 추계학술대회 2009	국내	0810220
폴전이성 비뇨기암 환자의 치료에 있어서 조메타 사용의 부작용	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회 추계학술대회 2009	국내	없음
전이성 신세포암 환자에서 표적치료로 인한 심혈관계 및 신장독성	이 강 현 (공동)	대한비뇨기과학회 추계학술대회 2009	국내	없음
전이성 투명 신세포암 환자에서 sunitinib과 sorafenib의 치료 효과와 이상반응 비교	이 강 현 (공동)	대한비뇨기과학회 추계학술대회 2009	국내	없음
장기간 3주 주기의 ocetaxel-Prednisolone 항암요법 후 완전관해를 이룬 57세 전립선암 환자 1례	이강현 (교신)	대한비뇨기종양학회 정기학술대회 2009	국내	없음
육종양암 변이성 방광 이행성 상피세포암	이강현 (교신)	대한비뇨기종양학회 정기학술대회 2009	국내	없음
호르몬 불응성 전립선암에서 Docetaxel 투여 후 PSA flare 현상의 의의	이강현 (교신)	대한비뇨기종양학회	국내	0810220
고위험군 국소 전립선암 환자에서 근치적 절제술 후 생화학적 재발의 예측인자로서 Prostate Stem Cell Antigen의 유용성	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회	국내	0810220
근치적 전립선적출술 후 생화학적 재발의 예측인자로 Epidermal Growth Factor Receptor의 발현	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회	국내	0810220
Value of PET/CT for Intraprostatic Localization of Prostate Cancer: Prospective Intra-patient Comparison of MR Imaging, 18F-FDG PET/CT, 11C-acetate PET/CT Using Histopathologic Analysis	이강현 (교신)	대한비뇨기종양학회	국내	0710330
근치적 전립선적출술 후 방광요도문합 부위의 요누출에 대한 검사 방법으로서 컴퓨터 단층촬영을 이용한 방광조영술의 유용성	이강현 (교신)	대한비뇨기종양학회	국내	0710330
T1G3 방광이행세포암에서 생화학적 지표의 발현이 예후에 미치는 영향	이강현 (교신)	대한비뇨기종양학회	국내	0110150
T1 방광이행세포암으로 처음 진단된 환자에서 림프관/혈관침범의 임상적 의의	이강현 (교신)	대한비뇨기과학회	국내	0110150
Results of repeated transurethral resection for a second opinion in patients referred for nonmuscle invasive bladder cancer: the referral cancer center experience and review of the literature	이강현 (교신)	World Congress of Endourology	국외	0710330
전이성 투명 신세포암 환자에서 Sunitinib의 치료 효과와 이상반응에 대한 보고	이강현 (공동)	대한비뇨기과학회	국내	없음

전이성 투명 신세포암에서 multiple tyrosine-kinase inhibitor 치료 후 전이 병변의 크기 감소	이강현 (공동)	대한비뇨기과학회	국내	없음
전이성 투명 신세포암 환자에서 일차 표적치료제와 이차 표적치료제로서 sorafenib의 효과에 대한 분석	이강현 (공동)	대한비뇨기과학회	국내	없음

1) 지역 : 국내, 국외

다. 산업재산권

구분	특허명	출원인	출원국	출원번호

※구분 : 발명특허, 실용신안, 의장등록 등

라. 저 서

저서명	저자	발행기관(발행국, 도시)	쪽수	Chapter 제목, 쪽수 (공저일 경우)
전립선암100문100답	전립선암센터	국립암센터 (서울)		교신저자
신장암100문100답	전립선암센터	국립암센터 (서울)		공저자
전립선암 진료지침	비뇨기종양학회	의학문화사(서울)	59-76	방사선치료 및 최소침습치료
방광암 진료지침	비뇨기종양학회	의학문화사(서울)	82-109	침윤성방광암치료: 수술, 방사선치료

마. 연구성과의 정부정책 기여

보고서명	정부정책	기여내용

바. 기타연구성과

(2) 목표달성도

가. 연구목표의 달성도

최종목표	연차별목표	달성내용	달성도(%)	
			연차	최종

나. 평가의 착안점에 따른 목표달성도에 대한 자체평가

평가의 착안점	자 체 평 가
목표한 검체수에 대한 RT-PCR	목표한 검체수에 대한 RT-PCR을 초과 달성함
목표한 검체수에 대한 면역조직화학검사	목표한 검체수에 대한 면역조직화학검사를 달성
SNP 연구를 통해 한국인 전립선암 환자에서는 의미있는 genetic polymorphism을 확인	전립선암 환자에서 PSCA, 8q24, AMACR 유전자의 genetic polymorphisms 연구결과 발표 한국인 전립선암 환자에서 NINJ1, POU5F1P1 유전자의 monomorphic feature를 확인하고 현재 논문 투고 중
조직 및 혈액에서의 생물학적 표지자의 발현과 임상정보와의 상관관계 확인 및 예후 예측인자로서의 유용성 검증	임상정보와의 상관관계를 분석하였고 PSCA와 PSMA의 혈액에서의 검출이 국소 전립선암의 수술 후 재발을 예측하는 예후 인자로서의 유용성 확인

5. 연구결과의 활용계획

(1) 연구종료 2년후 예상 연구성과

구 분	건 수	비 고
학술지 논문 게재	5	Urology, BJU Int, Journal of Urology 비뇨기 종양 분야의 주요 저널에 다수의 논문 출판
산업재산권 등록		특허 등록 예상 국가, 예상 특허명 등
기 타		500례 이상의 전립선암 혈액 및 조직 은행 구축

(2) 연구성과의 활용계획

PSCA, PSMA, PCA3와 같은 전립선암에 특이적인 주요 표지자를 이용하여 전립선암 환자의 혈액에서 순환하는 종양세포 (CTC)를 정성적으로 검출하였으며 의미있는 임상 인자로서의 가능성을 확인할 수 있었다. 이러한 정성적인 검출의 결과를 바탕으로 CTC를 직접 정량적으로 검출하는 연구와 검출한 CTC의 viability와 phenotype을 확인하는 연구를 추가적으로 진행하여 본 연구를 통해 얻은 정성적인 결과와 비교할 계획이다. 또한 새롭게 관심을 모으고 있는 전립선암 표지자를 추가적으로 이용하여 여러 표지자를 함께 분석함으로써 가장 효과적인 표지자의 조합을 알아볼 계획이다.

기능연구의 측면에서 PSCA의 경우에는 아직까지 전립선암에 있어 생물학적 기능과 carcinogenesis에 관여하는 메커니즘에 대한 연구가 전무하여 PSCA의 functional study와 관련 pathway를 찾기 위한 연구를 진행할 계획이다. 본 연구를 통해 확보한 전립선암의 TMA와 동결조직을 이용하여 전립선암 tissue 및 임상 DB를 포함하는 comprehensive approach of prostate cancer reaserach를 위한 자료로 적극 이용할 계획이다.

6. 참고문헌

- Joung JY, Lee KH et al, Genetic Variations of AMACR are Associated with Sporadic Prostate Cancer Risk in Ethnically Homogenous Koreans. *BioMed Res Int* 1-11, 2013
- Zheng SL, Chang BL et al, Sequence variants of alpha-methylacyl-CoA racemase are associated with prostate cancer risk. *Cancer Res* 62(22):6485-6488, 2002
- Wright JL, Neuhouser ML et al, AMACR polymorphisms, dietary intake of red meat and dairy and prostate cancer risk. *Prostate* 71(5):498-506, 2011
- Minner S, Enodien M et al, ERG Status Is Unrelated to PSA Recurrence in Radically Operated Prostate Cancer in the Absence of Antihormonal Therapy. *Clin Cancer Res* 17(18):5878-5888, 2011
- Joung JY, Lee KH et al, Association of common variations of 8q24 with the risk of prostate cancer in Koreans and a review of the Asian population. *BJU Int* 110:E318-325, 2012

Liu M, Kurosaki T et al, Significance of common variants on human chromosome 8q24 in relation to the risk of prostate cancer in native Japanese men. *BMC Genet* 10:37, 2009

Joung JY, Lee KH et al, Association and Haplotype Analysis of Prostate Stem Cell Antigen with Prostate Cancer Risk. *J Urol* 185(6):2112-8, 2011

Joung JY, Lee KH et al, Prostate Stem Cell Antigen mRNA in Peripheral Blood as a Potential Predictor of Biochemical Recurrence in High-Risk Prostate Cancer. *J Surg Oncol* 101:145, 2009

Joung JY, Lee KH et al, Prostate Specific Membrane Antigen mRNA in Blood as a Potential Predictor of Biochemical Recurrence after Radical Prostatectomy. *JKMS* 25:1291, 2010

Thomas, G., Jacobs, K. B., Yeager, M. et al.: Multiple loci identified in a genome-wide association study of prostate cancer. *Nat Genet*, **40**:310,2008

Yeager, M., Orr, N., Hayes, R. B. et al.: Genome-wide association study of prostate cancer identifies a second risk locus at 8q24. *Nat Genet*, **39**:645,2007

Zheng, S. L., Sun, J., Wiklund, F. et al.: Cumulative association of five genetic variants with prostate cancer. *N Engl J Med*, **358**:910,2008

Araki T, Milbrandt J et al, Ninjurin, a novel adhesion molecule, is induced by nerve injury and promotes axonal growth. *Neuron* 17(2): 353-361, 1996

Cardoso CC, Martinez AN et al, Ninjurin 1 asp110ala single nucleotide polymorphism is associated with protection in leprosy nerve damage. *J Neuroimmunol* 190(1-2): 131-138, 2007

Gudmundsson, J., Sulem, P., Manolescu, A. et al.: Genome-wide association study identifies a second prostate cancer susceptibility variant at 8q24. *Nat Genet*, **39**:631,2007

Chen, M., Huang, Y. C., Yang, S. et al.: Common variants at 8q24 are associated with prostate cancer risk in Taiwanese men. *Prostate*, **70**:502,2010

Liu, M., Kurosaki, T., Suzuki, M. et al.: Significance of common variants on human chromosome 8q24 in relation to the risk of prostate cancer in native Japanese men. *BMC Genet*, **10**:37,2009

Zheng, S. L., Hsing, A. W., Sun, J. et al.: Association of 17 prostate cancer susceptibility loci with prostate cancer risk in Chinese men. *Prostate*, **70**:425,2010

Wang, L., McDonnell, S. K., Slusser, J. P. et al.: Two common chromosome 8q24 variants are associated with increased risk for prostate cancer. *Cancer Res*, **67**:2944,2007

Reiter, R. E., Gu, Z., Watabe, T. et al.: Prostate stem cell antigen: a cell surface marker overexpressed in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**:1735,1998

Gu, Z., Thomas, G., Yamashiro, J. et al.: Prostate stem cell antigen (PSCA) expression increases with high gleason score, advanced stage and bone metastasis in prostate cancer. *Oncogene*, **19**:1288,2000

Sakamoto, H., Yoshimura, K., Saeki, N. et al.: Genetic variation in PSCA is associated with susceptibility to diffuse-type gastric cancer. *Nat Genet*, **40**:730,2008

Wang, S., Tang, J., Wang, M. et al.: Genetic variation in PSCA and bladder cancer susceptibility in a Chinese population. *Carcinogenesis*, **31**:621,2010

Gabriel, S., Ziaugra, L., Tabbaa, D.: SNP genotyping using the Sequenom MassARRAY iPLEX platform. *Curr Protoc Hum Genet*, Chapter2:Unit212,2009

Firth, D.: Bias reduction of maximum likelihood estimates. *Biometrika*, **80**:27,1993

Gao, X., Starmer, J., Martin, E. R.: A multiple testing correction method for genetic association studies using correlated single nucleotide polymorphisms. *Genet Epidemiol*, **32**:361,2008

Panagopoulos I, Moller E, Collin A et al, The POU5F1P1 pseudogene encodes a putative protein similar to POU5F1 isoform 1. *Oncol Rep* 20: 1029–1033, 2008

Atlasi Y, Mowla SJ, Ziaee SA et al, OCT-4, an embryonic stem cell marker, is highly expressed in bladder cancer. *Int J Cancer* 120: 1598-1602, 2007

Wu, X., Ye, Y., Kiemeny, L. A. et al.: Genetic variation in the prostate stem cell antigen gene PSCA confers susceptibility to urinary bladder cancer. *Nat Genet*, **41**:991,2009

Drysdale, C. M., McGraw, D. W., Stack, C. B. et al.: Complex promoter and coding region beta 2-adrenergic receptor haplotypes alter receptor expression and predict in vivo responsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **97**:10483,2000

Egan, J. B., Thompson, P. A., Ashbeck, E. L. et al.: Genetic polymorphisms in vitamin D receptor VDR/RXRA influence the likelihood of colon adenoma recurrence. *Cancer Res*, **70**:1496,2010

Karami, S., Brennan, P., Rosenberg, P. S. et al.: Analysis of SNPs and haplotypes in vitamin D pathway genes and renal cancer risk. *PLoS One*, **4**:e7013,2009

Menashe, I., Rosenberg, P. S., Chen, B. E.: PGA: power calculator for case-control genetic association analyses. *BMC Genet*, **9**:36,2008

D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, et al: Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *Jama* 1998;280:969 - 974.

Ofer Yossepowitch, James A. Eastham: Radical prostatectomy for high-risk prostate cancer. *World J Urol* 2008;26:219 - 224.

Joung JY, Yang SO, Jeong IG, et al: Reverse transcriptase-polymerase chain reaction and immunohistochemical studies for detection of prostate stem cell antigen expression in prostate cancer: Potential value in molecular staging of prostate cancer. *Int J Urol* 2007;14:635-643.

Jenkins RB, Qian J, Lieber MM, Bostwick DG: Detection of c-myc oncogene amplification and chromosomal anomalies in metastatic prostatic carcinoma by fluorescence in situ hybridization. *Cancer Res* 1997;57:524-531.

Yossepowitch O, Eggener SE, Bianco FJ Jr, et al: Radical prostatectomy for clinically localized, high risk prostate cancer: critical analysis of risk assessment methods. J Urol 2007; 178:493 - 499; discussion 499.

Yossepowitch O, Eggener SE, Serio AM, et al: Secondary therapy, metastatic progression, and cancer-specific mortality in men with clinically high-risk prostate cancer treated with radical prostatectomy. Eur Urol 2008;56:950-959.

Zippelius A, Pantel K: RT-PCR-based detection of occult disseminated tumor cells in peripheral blood and bone marrow of patients with solid tumors. An overview. Ann. NY Acad. Sci. 2000;906:110 - 123.

Reiter RE, Gu Z, Watabe T, et al: Prostate stem cell antigen: a cell surface marker overexpressed in prostate cancer. Proc. Natl Acad. Sci. USA 1998;95:1735 - 1740.

Gao CL, Dean RC, Pinto A, et al: Detection of circulating prostate specific antigen expression prostatic cells in the bone marrow of radical prostatectomy patients by sensitive reverse transcriptase polymerase chain reaction. J Urol 1999;161:1070 - 1076.

Oefelein MG, Ignatoff JM, Clemens JQ, et al: Clinical and molecular followup after radical retropubic prostatectomy. J Urol 1999;162:307 - 311.

Okegawa T, Noda H, Kato M, et al: Value of reverse transcription polymerase chain reaction assay in pathological stage T3N0 prostate cancer. Prostate 2000;44:210-218.

7. 첨부서류