

최종보고서 [기관고유연구사업]

과제고유번호	1310330	연구분야 (코드)	I-3	지원 프로그램	ex)창의 (일반연구)과제	공개가능여부 (공개, 비공개)	공개
연구사업명	국립암센터 기관고유연구사업						
연구과제명	(국문) 차세대 염기 서열 분석을 이용한 전립선암의 엑솜 서열 비교 분석 (영문) Comparative analysis of exome sequence in prostate cancer using next generation sequencing						
과제책임자	성명	박원서	소속	혈액암연구과, 전립선암센터	직위	책임연구원, 의사직	
세부과제	구분	과제명			과제책임자		
	(1세부)				성명	소속(직위)	전공
	(2세부)						
	(3세부)						
총연구기간	2013년 1월~2015년 12월(총 3년)	해당단계 참여 연구원 수	총: 8명 내부: 8명 외부: 0명	해당단계 연구개발비	연구비:80,000천원 민간: 0천원 계:80,000천원		
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 8명 내부: 8명 외부: 0명		총연구개발비	연구비:280,000천원 민간: 0천원 계:280,000천원	
연구기간 및 연구비 (단위:천원)	구분	연구기간	계	국립암센터	기업부담금		
	계	2013.1~2015.12	280,000	280,000	소계	현금	현물
	제1차	2013.1~2013.12	100,000	100,000			
	제2차	2014.1~2014.12	100,000	100,000			
	제3차	2015.1~2015.12	80,000	80,000			
참여기업	참여기업명 :						
국제공동연구	상대국명:				상대국 연구기관명:		
위탁연구	연구기관명:				연구책임자:		
요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)							

2015 년 10 월 일

과제책임자 : 박 원 서 (인)

국립암센터 원장 귀하

< 국문 요약문 >

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p><최종목표></p> <ul style="list-style-type: none"> - 엑솜 서열 분석을 통하여 전립선암의 특이적 유전적 변이를 발굴하고, 환자의 치료 후 반응을 예측할 수 있는 마커를 발굴 확인하는 것이 본 연구의 최종목표임. - 전립선암과 정상조직의 엑솜 서열분석을 통해 전립선암 특이적 유전자 변이를 발굴, 한국인 전립선암 관련 유전자 확인. - 각종 분자생물학적 기술을 이용하여 엑솜 분석의 결과를 확인함. - 발굴된 표지자들을 환자의 임상상 (병기, 재발여부, 호르몬 치료 불용성 등)과 비교 분석하여 마커를 발굴함. - 임상적 이용이 가능한 선택적 유전체 분석을 위한 기본 자료 확보 <p><당해연도목표></p> <ul style="list-style-type: none"> - 당해년도에는 연구를 위한 전립선암 조직(암조직과 정상 조직을 매칭) 30예 확보. - NGS를 이용하여 exome sequencing을 시행하여 가능성 있는 유전자를 발굴함. - 차세대 서열 분석 기술을 이용한 전유전체 엑솜 서열분석을 시행 - 이미 알려진 전립선암 유전자군을 확인하고 새로운 돌연변이를 검색함. - 돌연변이가 의심되는 경우 capillary gel electrophoresis를 이용한 염기서열 분석과 real-time PCR을 이용하여 돌연변이를 재확인하는 작업을 수행함 - 발굴된 표지자들을 환자의 임상상과 비교 분석함. 																
<p>연구개발성과</p>	<p><정량적 성과¹⁾></p> <table border="1" data-bbox="464 1093 1401 1232"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>달성치/목표치¹⁾</th> <th>달성도(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SCI 논문 편수</td> <td>1/2</td> <td></td> </tr> <tr> <td>IF 합</td> <td>3.234</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></p> <ul style="list-style-type: none"> - 차세대 서열 분석 기술을 전립선암 관련 유전체 변이 발굴에 적용시킴으로써 첨단 기술의 임상적 적용 가능성을 알아보고, 향후 관련 연구 분야의 발전에 기여할 수 있을 것으로 기대됨. - 전립선암 관련 유전체 변이 발굴은 추후 전립선암의 진단, 치료, 예방에 기여할 수 있는 중요한 연구 자료로 활용될 것으로 기대됨. 					구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)	SCI 논문 편수	1/2		IF 합	3.234		기타 성과		
구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)															
SCI 논문 편수	1/2																
IF 합	3.234																
기타 성과																	
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 차세대 서열 분석 기술을 이용하여 전립선암 유전체 변이를 시퀀싱하여 기초 자료를 확보하였고 일부 연구를 발표함. - 전립선암 관련 유전체 서열분석은 추후 연구를 위한 기초 자료로 매우 중요한 의미가 있을것으로 생각함. - 이는 추후 전립선암의 진단, 치료, 예방에 기여할 수 있는 중요한 연구 자료임. 																
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>전립선암</p>	<p>엑솜 서열</p>	<p>차세대 염기서열</p>														

< 영문 요약문 >

< SUMMARY >

<p>Purpose& Contents</p>	<ul style="list-style-type: none"> - The final goal of this study is to mine and validate the specific genetic changes in prostate cancer which can predict the response after treatment of patients. - Through the exome and genome sequencing in normal and tumor sample of prostate, prostate cancer specific genetic change will be found. - exome sequencing of fresh prostate cancer. - Validation study : immunohistochemical analysis of tissue microarray(TMA) - The data will be comparatively analysed according to the clinical manifestation (cancer stage, biochemical recurrence, hormonal refractory status). - Through this study, we will mine theragnostic marker for treatment of prostate cancer. 				
<p>Results</p>	<ul style="list-style-type: none"> - The cohort for prostate cancer was build - Fresh prostate cancer tissue was collected. - Exome sequencing was performed. - additionally. whole-genome sequencing was done. - Additionally, the investigators analysed the public TCGA data. - TMA was build from the archive of prostate cancer database. - IHC was done and some promising markers was found - The genetic profile and expression profile were correlated to the clinical findings. 				
<p>Expected Contribution</p>	<ul style="list-style-type: none"> - This results can be applied to help the clinical decision making for patients care, and will be helpful for the further research of prostate cancer. - These prostate cancer genetic study will be the basic data of Korean patients for the diagnosis, treatment and prevention. - These data will be the fundamentals for the precision and personalized medicine of prostate cancer. 				
<p>Keywords</p>	<p>prostate cacner</p>	<p>exome sequencing</p>	<p>next generation sequencing</p>		

< 목 차 >

1. 연구개발과제의개요	5
2. 국내외 기술개발 현황	8
3. 연구수행 내용 및 결과	8
4. 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	22
5. 연구결과의 활용계획 등	22
6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보	23
7. 연구개발과제의 대표적 연구실적	24
8. 참여연구원 현황	26
9. 기타사항	26
10. 참고문헌	26

<별첨> 자체평가의견서

<본문작성 양식>

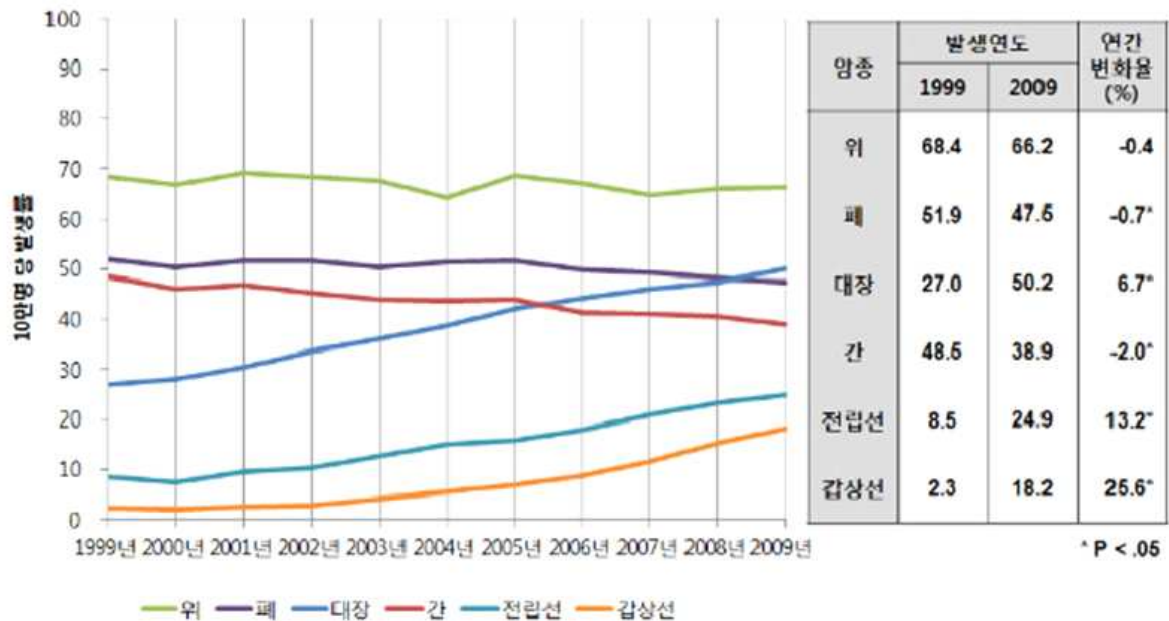
1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

차세대 서열 분석 기술 (Next generation sequencing technology)을 이용하여 전립선암 조직의 엑솜 염기서열 분석을 통하여 전립선암의 맞춤치료를 위한 마커를 발굴함이 본 연구의 최종 목표임.

1-2. 연구개발의 필요성

- 전립선암은 서구 남성에게 있어 가장 흔하게 발생하는 암이며 암에 의한 사망 중 2번째 암으로, 최근 우리나라에서도 발생 빈도가 급속히 증가하고 있음



[연도별 연령표준화발생률* 추이 : 남자]

- 우리나라에서는 최근 그 빈도가 급격하게 증가하는 양상을 보이는 암으로, 아주 빠른 시기에 서양과 비슷한 양상의 암발생 빈도를 보일 것으로 예상되는 암임.
- 현재 전립선암의 치료 방법을 결정하고 예후를 예측하는데 있어 가장 중요한 과정은 암의 정확한 병기를 결정하는 것임
- 현재 진단시 혈중 PSA, 조직검사의 GS, 그리고 임상적 병기를 기준으로 하여 치료 방법과 예후를 예측하고 있으나 각각의 예측인자가 가지는 한계점으로 인해 치료 전 정확한 병기를 예측할 수가 없으며 이를 보완하기 위해 여러 가지 생물학적인 예측인자에 대한 연구가 계속되어 왔음.

NGS 기술의 발전과 개인별 유전체 서열 분석

- 2003년 인간 게놈 프로젝트가 완성되어 약 30억 염기쌍에 해당하는 한 사람 분량의 게놈 서열이 공개됨으로써 의생명과학에서 가장 중요한 이정표가 세워짐 (한 사람 분량의 전체 게놈을 분석하는데 10년 이상, 약 30억 달러의 어마어마한 자원이 사용됨)
- 454 Technology사 (이후 Roche사로 합병됨), Solexa 사 (이후 일루미나 사로 합병됨), Applied Biosystems사 (이후 InvitroGen과의 합병으로 Life Technology사로 바뀜) 등이 새로운 기술들을 개발해내고 이후 Helicos, Complete Genomics 등 새로운 서열 분석 기기와 기술을 제공하는 회사들이 만들어졌으며, Pacific Bioscience사 등 더욱 혁신적인 분석 기술 발표를 예고하고 있는 회사도 줄을 잇고 있는 등 차세대 유전체 서열 분석 기술의 태동과 발전에 따라, 2010년에는 한 사람의 게놈을 분석하는 비용은 약 5천-2만 달러 정도까지 떨어졌으며, 빠른 시일내에 약 1,000 달러까지 떨어질 것으로 전망됨

□ 질병 관련 유전체 변이 발굴 연구의 현황과 한계

- 가계분석을 이용한 유전학적 접근
 - 연구를 위해서는 대가계가 있어야 하며, 주로 단일 유전 원인에 의해 발생하는 질병에 대해서 효과적인 분석이 가능하다는 한계를 가지고 있음
- HapMap 프로젝트를 통한 common SNP 발굴과 이를 이용한 GWAS 연구
 - 최근들어 GWAS를 통해 발굴된 변이의 재현성에 일부 문제가 제기되고 있으며, 발굴된 변이가 이미 알려진 유전적 성질을 충분히 설명하지 못하고 있고, 지나치게 상대위험도가 낮다는 등의 한계가 제시되면서, common disease common variation 가설 자체의 신빙성에도 의문이 제기되고 있음
- CNV 등 새로운 유전체 변이의 발견
 - SNP으로 설명되지 못하는 질환 관련 유전체 변이가 구조 변이와 관련될 가능성이 제기되고 있으며, 자폐증, 비만 등 일부 질환과의 관련성에 대한 보고가 발표된 바 있음

□ 차세대 서열 분석을 이용한 질병 관련 유전체 연구의 유용성

- 유전체 서열 분석을 통한 질병 관련 유전체 변이 발굴 연구의 필요성
 - 질병 관련 유전체 변이 발굴을 위해서는 SNP, short indel, CNV 등 다양한 유전체 변이에 대한 접근이 동시에 이루어져야 하며, common variation 이외에 rare variation에 대한 고려도 반드시 필요함
 - 이러한 연구를 위해서는 기존의 마이크로어레이 방식 연구가 한계를 가지고 있

으며 서열 분석이 이에 대한 대안이 될 수 있음

- 개인별 정상조직과 암조직의 유전체 서열 분석
 - 가장 확실한 방법으로서, SNP, indel, CNV 등 다양한 variation을 다 발굴할 수 있고, rare variation의 발굴에도 문제가 없음
 - 선택적 유전체 분석을 하기 위한 바탕으로서도 전유전체 서열 분석이 반드시 필요하며, 특히 정상적으로 존재하는 variation의 발굴 및 리스트 확보는 질병관련 희귀 유전 변이 발굴에 필수적인 전제 조건임
- 선택적 유전체 서열 분석
 - 전체 엑손 (whole exome) 분석 : 유전자의 엑손 부위만을 다 모아서 캡춰할 수 있도록 프로브를 제작할 수 있으며, 이를 통해 모든 유전자의 엑손 부위에 대한 서열 분석이 가능함

□ 차세대 서열 분석 기술을 이용한 질병 관련 유전체 변이 발굴 연구의 필요성

- 차세대 서열 분석 기술의 지원 필요성
 - 차세대 서열 분석 기술은, 유전체학의 핵심 기술 중 하나로서, 이에 대한 분석 경험과 노하우는 유전체 정보 기반 맞춤의학을 구현하는데 중요한 기반이 될 수 있음
- 환자군 대상 유전체 서열 분석 기술의 중요성
 - 현재까지 차세대 서열 분석 기술은 주로 정상인을 대상으로만 진행되어 왔음
 - 본 연구에서는 환자의 암조직과 정상 전립선 조직, 혈액을 대상으로 빠른 연구 수행을 통해 전립선암의 마커를 발굴할 준비가 되어 있음.

□ 선행 연구 결과 및 진행중인 연구

- 국립암센터 전립암센터 연구팀은 “전립선암의 circulating tumor cell 및 SNP 연구” 등을 통하여 이미 다수의 연구 결과를 내었음.
- 위 연구를 통하여 환자의 조직 및 혈액 샘플 채취 및 보관에 관한 노하우를 확보하였음.
- 이와 더불어 전립선암의 전사체 분석을 수행하는 중임. 예비 결과로 한국인에서는 TMPRSS2-ERG 유전자 fusion이 20% 정도로 서양인(약40%)에 비해 큰 차이가 있는 예비 결과를 얻었음.
- 본 연구는 전립선암의 전사체 분석 연구와 동시에 수행될 경우 한국인의 전립선암

의 분자 생물학적 특성 이해에 획기적인 발전을 이룰 것으로 생각함.

2. 국내외 기술개발 현황

- 차세대 염기 서열 분석의 비용이 낮아지면서 많은 국내외 연구기관들(대학 연구소)에서 유사한 연구를 시행하고 있음. (대표적으로 Sloan-Kettering Hospital, Johns-Hopkins, MD-Anderson, British Columbia 대학등)
- TCGA에는
- 본 연구는 비뇨기 전문의, 병리의, 분자 생물학 전문가가 팀을 이루어 연구를 수행할 예정임.
- 이를 통하여 전립선암을 임상상(호르몬 불용성, 생화학적 재발, 병리학적 병기, 글리슨점수등)에 따라 나누고 각각의 엑솜분석을 시행하는 것이 기존의 연구와는 다른 점임.

3. 연구수행 내용 및 결과

- 본 연구를 수행하기 위하여 국립암센터에서 근치적 전립선 절제술을 시행한 모든 예에 대한 데이터베이스를 구축하였음. 2015년 10월 현재 총 915명의 병리 조직, 병리 데이터, 임상데이터(전립선의 크기, 무게, 글리슨 점수, 병기, 암의 퍼진 정도, 수술 경계, 호르몬 치료여부, 생존, 생화학적 재발등)를 확보하였음.

Serial	Surgical	Chart	Name	Age	PSA	Free PSA	Gleason
PCa							
1	S 01-0003411	30066722	최○○	72	9.3		
2	S 02-0000214	20024055	한○○	72	15.9		
3	S 02-0000548	30072291	이○○	62	9.4	1.05	3
4	S 02-0002016	30125931	이○○	74	9.9		
5	S 02-0002960	30137244	윤○○	64	7.8		3
6	S 02-0004379	30154030	박○○	62	15.5		
.
.
.
911	S 15-0012462	33253579	박○○	68	13.9		3
912	S 15-0012580	33249980	김○○	72	6.9		3
913	S 15-0012759	33253556	정○○	62	5.6		3
914	S 15-0012877	33251549	강○○	73	6.7		3

915	S 15-0012922	33251784	김○○	75	5.8	1.30	3
-----	--------------	----------	-----	----	-----	------	---

차세대 염기 서열 실험을 위하여 총 284예의 동결 조직을 확보하였음. (2015년 10월). 검체숫자로는 약 800 vial.

T No	Tissue	Tumor	Normal	N No
1	P #218 (20409151)	7		
2	P #220 (20411945)	5		
3	P #222(31382605)	5		
4	○○○(90171974)	3		
.
.
.
# 280	P #793 (33254023)	1	1	260
# 281	P #797 (30031350)	1	1	261
# 282	P #805 (33258222)	1	1	262
# 283	P #806 (33256856)	2	2	263
# 284	P #814 (33260689)	1	1	264

2015년 10월까지 25예의 전립선암-정상 조직을 추가로 동결보관하였음.(총 수술 90예중)

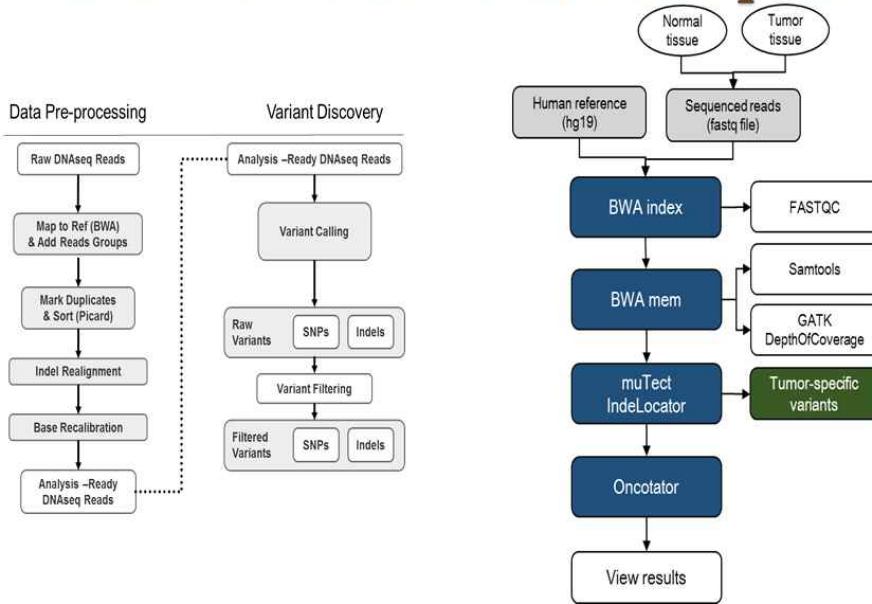
이중 50쌍의 샘플 (100 샘플)에 대하여 NGS를 이용하여 exome sequencing을 시행하였음.

이중 정상-암조직이 매치되고, 원하는 Geason grade 및 T stage의 조직에 대하여 exome sequencing을 시행하였고 49예를 분석함.

Serial No.		Gleason	grade	Stage
.
.
.
39	S 13-001xxxx	4	3	2c
40	S 13-002xxxx	3	3	2a
41	S 13-002xxxx	5	4	3b
42	S 13-002xxxx	3	3	3a
43	S 13-002xxxx	4	3	2a
44	S 13-002xxxx	4	3	3b
45	S 13-002xxxx	3	4	2c
46	S 13-002xxxx	4	5	3a
47	S 14-000xxxx	5	4	3b
48	S 14-001xxxx	3	3	2a
49	S 14-002xxxx	4	4	2c

49예의 종양-비종양 조직의 쌍을 분석하였음.

WES : 49 tumor-normal pairs



이를 통하여 의미있는 변이된 유전자들을 찾아 이전의 연구들과 비교하고, 반복되는 변이를 추적하였으며, MutSigCV를 이용하여 분석하였음.

또한 TCGA 데이터를 관찰하여 본 연구에서 나온 결과와 비교 분석하였음.

Prostate Adenocarcinoma (TCGA, Provisional, 336 samples)

Gene	Cytoband	Gene size (Nucleotides)	# Mutations	# Mutations / Nucleotide	Mutsig Q-value
TP53	17p13.1	3924	24	6.12E-03	0
FOXA1	14q12-q13	4111	13	3.16E-03	1.01E-12
SPOP	17q21.33	6380	27	4.23E-03	3.62E-12
KIDINS220	2p24	11082	3	2.71E-04	3.62E-12
CTNNB1	3p21	6606	9	1.36E-03	3.62E-12
PTEN	10q23.3	10048	13	1.29E-03	2.76E-01
NKX3-1	8p21.2	3271	5	1.53E-03	3.27E-04
IDH1	2q33.3	4721	4	8.47E-04	5.01E-04
ATM	11q22-q23	22317	12	5.38E-04	2.94E-03
LMOD2	7q31.32	2731	3	1.10E-03	9.74E-03
OR4D5	11q24.1	1095	5	4.57E-03	0.0102
BRAF	7q34	4564	6	1.32E-03	0.013
NTM	11q25	6949	5	7.20E-04	0.025
LILRB5	19q13.4	6048	3	4.96E-04	0.0433

그중 TP53의 비교분석은 아래와 같음.

ID	Symbol	Chr	Start	End	Protein_Change	Type	Ref	Alt	COSMIC
265T		17	47696644	47696644	p.F102L	Missense	A	G	
329T		17	47696689	47696689	p.Y87N	Missense	A	T	O
403T	SPOP	17	47696432	47696432	p.W131G	Missense	A	C	O
700T		17	47696434	47696434	p.D130V	Missense	T	A	
709T		17	47696430	47696430	p.W131C	Missense	C	A	
703T	FOXA1	14	38061208	38061208	p.R261G	Missense	G	C	
707T	PTEN	10	89711875	89711875	p.G165R	Splice_Site	G	A	O

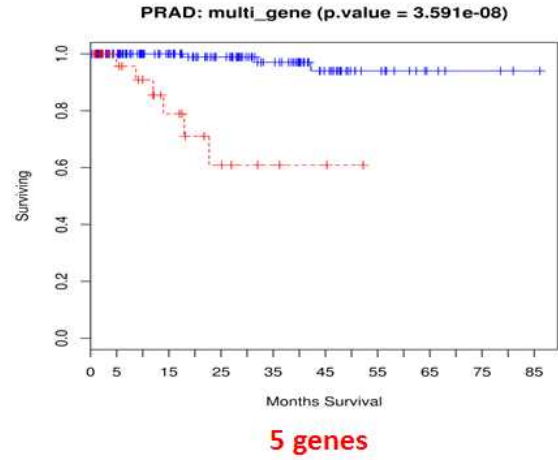
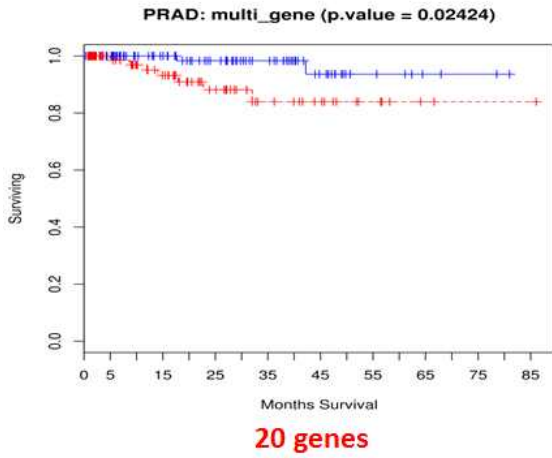
TP53

ID	Chr	Pos	dbSNP	ref	alt	N_ref	N_alt	N_freq	T_ref	T_alt	T_freq
434T	chr17	7569446	.	C	T	0	0	0	1	4	0.8
707Tm	chr17	7569446	.	C	T	1	1	0.5	0	3	1
709T	chr17	7569489	.	C	T	15	0	0	17	2	0.105
333T	chr17	7572980	.	T	G	43	1	0.023	88	3	0.033
334T	chr17	7572980	.	T	G	46	7	0.132	93	5	0.051
354T	chr17	7572980	.	T	G	50	6	0.107	69	3	0.042
389T	chr17	7572980	.	T	G	91	7	0.071	106	1	9.35E-03
404T	chr17	7572980	.	T	G	72	4	0.053	84	1	0.012
707Tm	chr17	7572980	.	T	G	44	7	0.137	60	3	0.048
331T	chr17	7580651	.	C	T	161	0	0	287	3	0.01

위 표에서 보는 바와 같이 본 연구에서 나오는 유전자 변이가 TCGA와 유사하여 본 연구가 타당하게 이루어졌다고 생각하고 다음으로 빈번하게 반복되는 유전자 변이를 MutSig으로 관찰한 결과는 아래와 같음.

ID	Symbol	Chr	Pos	Type	Ref	Alt	Protein_Change	COSMIC
312T	GRIN2A	16	9862772	Missense	T	C	p.K844R	
355T	GRIN2A	16	10032222	Missense	G	T	p.Q201K	
403T	GRIN2A	16	9892255	Nonsense	G	T	p.C745*	
707T	GRIN2A	16	9934882	Missense	T	C	p.T470A	p.T470fs*21(1)
329T	KRT1	12	53069243	Missense	T	C	p.S557G	p.S557_G563delSSYGSGG(3)
415T	KRT1	12	53069243	Missense	T	C	p.S557G	p.S557_G563delSSYGSGG(3)
710T	KRT1	12	53069243	Missense	T	C	p.S557G	p.S557_G563delSSYGSGG(3)
334T	LRP1	12	57552421	Splice_Site	G	A	p.G600S	
401T	LRP1	12	57570964	Missense	C	T	p.R1378W	p.R1378W(1)
433T	LRP1	12	57587040	Missense	G	A	p.G2546D	
331T	LRP1B	2	141253301	Missense	C	A	p.G2956V	
403T	LRP1B	2	141473552	Missense	G	A	p.P2005S	
438T	LRP1B	2	141665545	Missense	G	A	p.H1141Y	

Technique for Order of Preference by Similarity to Ideal Solution 이라는 분석 틀을 이용하여 public data 및 자료를 분석하였음. 환자의 생존과 밀접한 관계를 보이는 20개의 유전자를 찾았고, 그중 5개 유전자 (RRM2, UGDH, OGT, FLAD1, MAT2A)가 좀더 유의한 관계를 보여주었음.



샘플들의 유전자 서열분석 결과의 통계는 다음과 같음.



Statistics of sequencing

Sequenced reads and coverages	Mean of		
	Blood	Normal tissue	Tumor tissue
Reads mapped to genome	114,986,125	91,351,097	116,926,446
Reads mapped to target	83,428,869	75,034,333	95,743,234
Mean depth of targets	75.7	69.1	88.1
Fraction of exon covered >=10	72.6	71.7	74.8
Fraction of exon covered >=30	59.3	56.3	61.6
Fraction of exon covered >=50	49.2	45.7	51.8

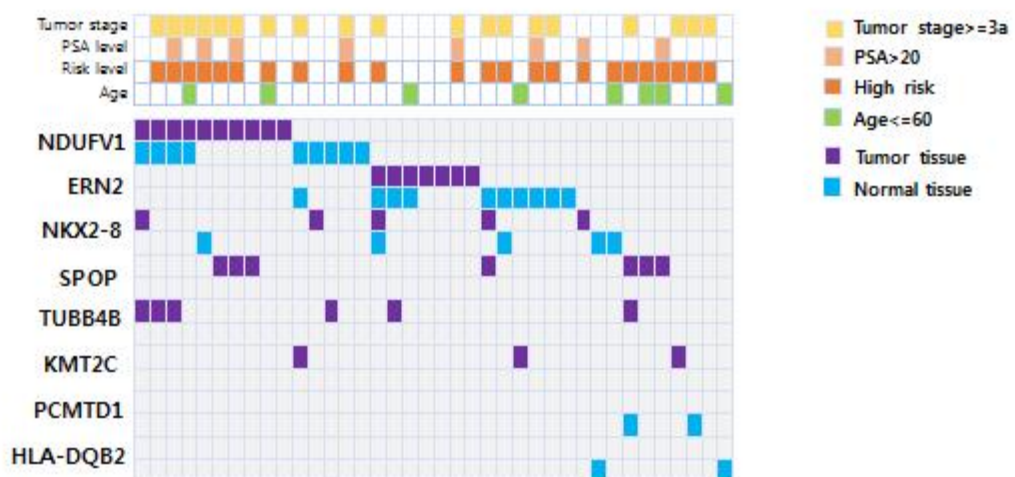
유전자들의 somatic mutation을 표로 정리하면 다음과 같음.

Summary of somatic mutations

Type of somatic mutation	Mean of	
	Normal tissue	Tumor tissue
Intergenic	26.5	25.7
Intron	617.6	624.1
Silent	172.5	162.1
Missense	170.5	178.2
Stop-gained	2.2	3.9
Stop-lost	0.1	0.2
Splice site	6.6	8.3
3'-UTR	41.2	41.6
5'-UTR	28.2	29.0

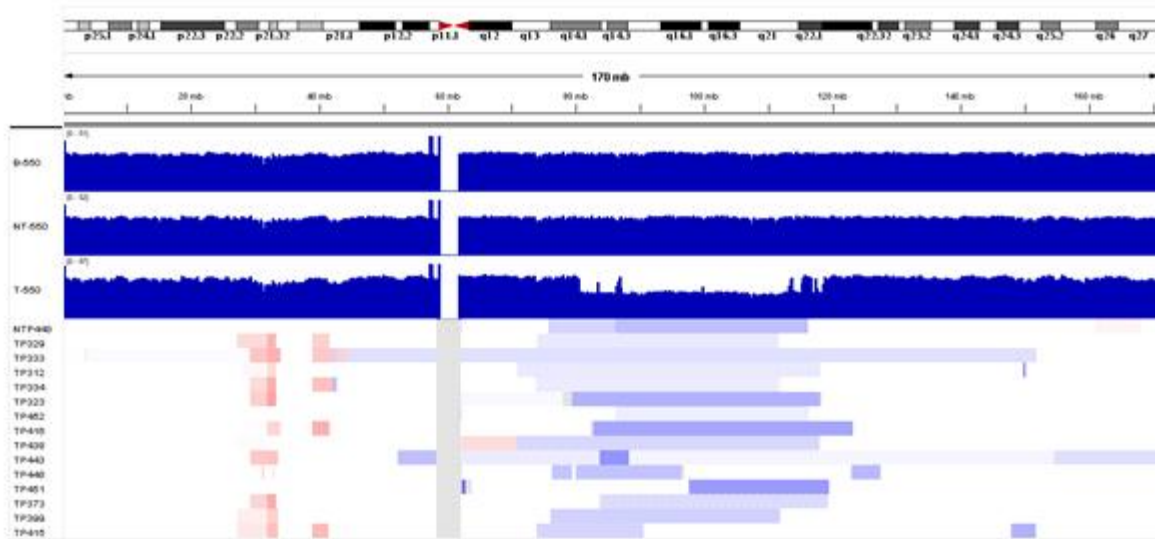
정상 조직과 종양조직의 유전자 변이를 조사한 결과 정상 조직에서도 많은 유전자 변이가 관찰되었음.

Recurrent mutations in normal and tumor tissues



또한 6번 염색체 부위의 deletion이 관찰되었으며 이는 WGS 에서도 확인되었음.

Consistent deletion on Chr. 6 in WES and WGS



6q deletion에 해당하는 후보 유전자는 MAP3K7, EPHA7, HDAC2, WISP3등이 가능성이 있으며 이에 대한 추가 연구가 필요하리라 생각함.

Candidate genes for prostate cancer (6q deletion)

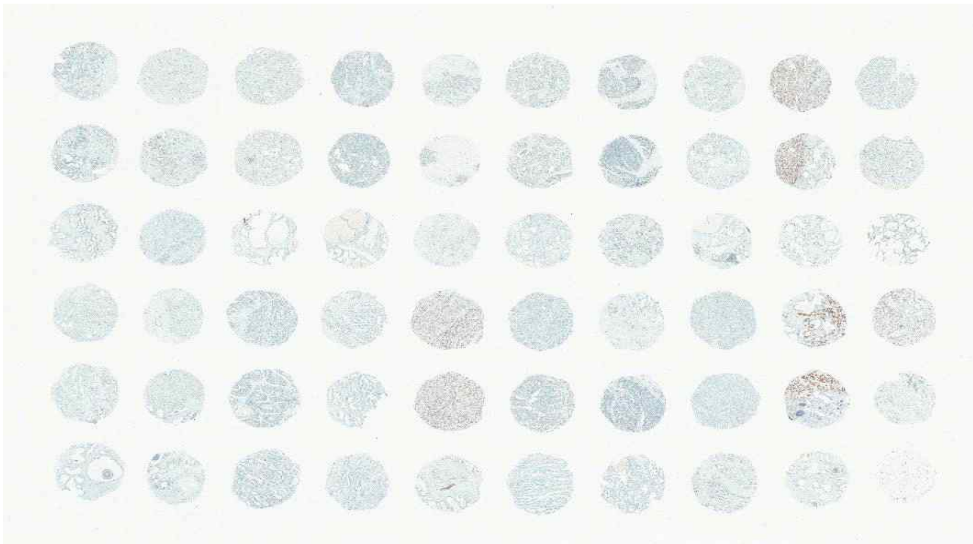
Gene symbol	Molecular function	Annotation
MAP3K7	Kinase	Tumor suppressive role; MAP3K7 deletion found in 18.48% of prostate cancer
EPHA7	Eph receptor	Regulation of oncogenic signaling
HDAC2	Histone deacetylase	Regulation of cell cycle
WISP3	WNT1 inducible signaling pathways protein subfamily	Oncogenic or tumor suppressive role, interacting with CCN proteins

655환자 병리 조직에 대한 tissue microarray를 제작하였음.(TMA 29개- TA486a, 486b,

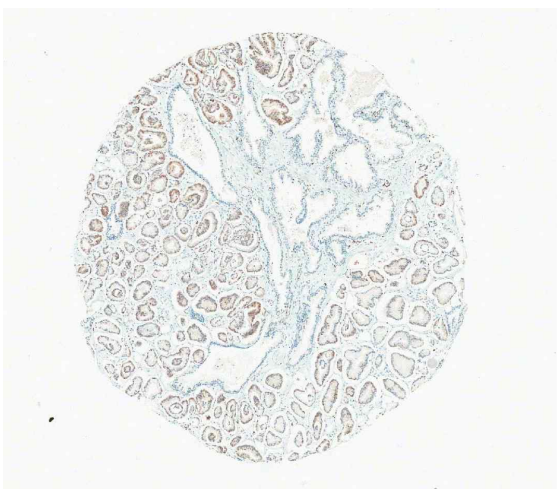
487, 612, 613, 614, 641, 909, 910, 913, 914, 1043, 1044, 1055, NCC22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65)

TMA에 대하여 15종의 항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 시행하였고 판독하였음(Bcl-2, C-erb B2, Cox2, Cyclin D1, EFGR, EpCAM, ERG, Hif1a, Ki-67, p53, PMS2, PSCA, PTEN, Rb, VEGF) .

염색 슬라이드 총 개수 - 435장 (29 TMA x 15 antibodies)



ERG 면역 염색 결과 (저배율 사진)



각각의 조직의 면역화학 염색 결과 (고배율 사진)

TMA의 판독은 염색 강도를 0-negative, 1-weak positive, 2-positive, 3-strong positive 로 판독하였으며, 각각의 강도에 해당하는 부위의 퍼센트를 판독하였음. 전체 염색 정도는 염색 강도x퍼센트를 그 값으로 했음(예; 염색 강도 weak positive 20%, positive 50%, strong positive 30%의 경우 $1 \times 20 + 2 \times 50 + 3 \times 30 = 210$)

TMA-IHC 데이터와 임상데이터와의 연관관계를 비교 분석하였음.

아래 표는 분석에 포함된 예들의 임상적 특징을 정리한 것임.

Variables	No. of patients (%)
Age (years)	65.5 ± 7.0
PSA (ng/ml)	
< 4.1	361 (70.6)
4.1-10.0	86 (16.8)
10.1-20.0	37 (7.2)
> 20.0	27 (5.3)
Gleason score(biopsy) ,(n,%)	
2-6	303 (59.3)
7	157 (30.7)
8-10	49 (9.6)
Pathologic stage (n,%)	
pT0N0M0	5(1.0)
pT2N0M0	345(67.5)
pT3N0M0	144(28.2)
pT4N0M0	1(0.2)
N1 or M1	16(3.1)
LV invasion (+),(n,%)	58(11.4)
Perineural invasion (+),(n,%)	290(56.8)
SV invasion (+),(n,%)	55(10.8)
Surgical Margin (+),(n,%)	16(24.2)
Biochemical recurrence (n,%)	128 (25.0)
Biochemical recurrence duration (months)	38.3 ± 28.8
Follow-up duration (months)	48.7 ± 30.9

아래 표에서 흐린색의 인자들이 환자의 생물화학적 재발(biochemical recurrence)과 어떤 연관이 있는지를 확인하였음. 여러 인자들중 흐린색의 인자들이 통계학적 유의성을 보였음.

Staining parameters	BCR(+)	BCR(-)	Correlation coefficient	p-value	
ERG (+)	27	117	4.547	0.033	
Rb loss	43	169	4.642	0.038	
PTEN loss	61	153	2.197	0.148	
ERG-PTEN =+/+	10	38	5.931	0.114	
+/-	17	79			
-/+	51	115			
-/-	50	149			
CERB-2 (+)	42	99	2.181	0.139	
Cox2 (+)	100	242	11.894	0.027	
Cyclin D1(+)	97	256	3.428	0.076	
Bcl-2(+)	37	68	6.785	0.011	
VEGF strong(+)	123	361	0.388	0.643	
PSCA(+)	97	316	3.077	0.089	
degree			8.318	0.038	
PMS2(+)	87	241	0.939	0.393	
P53(+)	12	21	2.187	0.146	
Ki67(+)	47	83	10.828	0.001	
EGFR(+)	37	68	6.785	0.011	
BRCA1(+)	119	356	0.458	1.000	
BRCA2(+)	69	143	10.729	0.001	

아래 표는 biochemical recurrence와의 연관관계를 밝히기 위하여 multivariate cox regression analysis를 시행한 결과임.

Variables	ERG(+) n=27(21.1%)	ERG(-) n=101(78.9%)	RB loss(+) n=43(33.6%)	RB loss(-) n=85(66.4%)	Cox2 (+) N=100(19.6%)	Cox2 (-) N=29(22.7%)	Bcl-2(+) n=37(28.9%)
PSA(ng/ml)							
< 4.1	17(63.0)	72 (71.3)	27(62.8)	62(72.9)	73(73.7)	16(55.2)	24(64.9)
4.1-10.0	4(14.8)	10(9.9)	8(18.6)	6(7.1)	9(9.1)	5(17.27)	4(10.8)
10.0-20.0	4(14.8)	6(5.9)	1(2.32)	9(10.6)	8(8.1)	2(6.9)	5(13.5)
> 20.0	2(7.4)	13(12.9)	7(16.33)	8(9.4)	9(9.1)	6(20.7)	4(10.8)
Gleason score							
non-available	0(0)	1(1.0)	0(0)	1(1.2)	2(6.5)	0(0)	0(0)
2-6	5(18.5)	13(12.9)	5(11.6)	13(15.3)	7(22.6)	1(3.4)	7(18.9)
7	16(59.3)	52(51.5)	23(53.5)	45(52.9)	17(54.)	15(51.7.)	16(43.2)
8-10	6(22.2)	35(34.7)	15(34.9)	26(30.6)	5(16.1)	13(44.8)	14(37.8)
Path. stage							
pT2N0M0	9(33.3)	46(45.5)	19(44.2)	36(42.4)	46(46.5)	9(31.0)	20(54.1)
pT3N0M0	17(63.0)	51(50.5)	23(53.5)	45(52.9)	49(49.5)	19(65.5)	16(43.2)
N1 or M1	1(3.7)	4(4.0)	1(2.3)	4(4.7)	4(4.0)	1(3.4)	1(2.7)
Surgical RM	15(57.7)	48(48.0)	16(53.3)	47(49.0)	47(48.5)	16(59.3)	21(56.8)
LVI	6(22.2)	23(22.8)	9(20.9)	20(23.5)	18(18.2)	11(37.9)	11(29.7)
SVI	6(22.2)	23(22.8)	6(19.4)	6(19.4)	19(19.2)	10(34.5)	6(19.4)
PNI	21(77.8)	72(71.3)	34(79.1)	59(69.4)	68(68.7)	25(86.2)	30(81.1)

Variables	Bcl-2(-) n=65(71.1%)	Ki67(+) n=47(37.0%)	Ki67(-) n=80(63.0%)	EGFR(+) n=37(28.9%)	EGFR(-) n=91(71.1%)	BRCA2(+) n=69(54.8%)	BRCA2(-) n=57(45.2%)
PSA(ng/ml)							
< 4.1	65(71.4)	34(72.3)	55(68.8)	22(59.5)	67(73.6)	53(76.8)	36(63.2)
4.1-10.0	10(11.0)	8(17.0)	6(7.5)	4(10.8)	10(11.0)	6(8.7)	8(14.0)
10.0-20.0	5(5.5)	2(4.3)	8(10.0)	3(8.1)	7(7.7)	4(5.8)	5(8.8)
> 20.0	11(12.1)	3(6.4)	11(13.8)	8(21.6)	7(7.7)	6(8.7)	8(14.0)
Gleason score							
non-available	4(13.8)	4(13.8)	4(13.8)	4(13.8)	4(13.8)	4(13.8)	6(12.2)
2-6	7(24.1)	7(24.1)	7(24.1)	7(24.1)	7(24.1)	7(24.1)	12(24.5)
7	14(48.3)	14(48.3)	14(48.3)	14(48.3)	14(48.3)	14(48.3)	25(51.0)
8-10	4(6.1)	4(6.1)	4(6.1)	4(6.1)	4(6.1)	4(6.1)	6(12.2)
Pathologic stage							
pT0N0M0	1(3.4)	1(3.4)	1(3.4)	1(3.4)	1(3.4)	1(3.4)	1(3.4)
pT2N0M0	15(51.7)	15(51.7)	15(51.7)	15(51.7)	15(51.7)	15(51.7)	29(59.2)
pT3N0M0	10(34.5)	10(34.5)	10(34.5)	10(34.5)	10(34.5)	10(34.5)	16(32.7)
N1 or M1	3(10.3)	3(10.3)	3(10.3)	3(10.3)	3(10.3)	3(10.3)	3(6.1)
Surgical RM							
LVI	4(13.8)	4(13.8)	4(13.8)	4(13.8)	4(13.8)	4(13.8)	6(12.2)
SVI	7(24.1)	7(24.1)	7(24.1)	7(24.1)	7(24.1)	7(24.1)	8(16.3)
PNI	3(10.3)	3(10.3)	3(10.3)	3(10.3)	3(10.3)	3(10.3)	5(10.2)

현재까지 분석한 결과에 따르면 BCR과 연관이 있는 인자들로는 ERG , Rb loss, cox 2, Bcl2 , Ki67, EGFR, BRCA2등이 통계학적 유의성을 갖는 상관성 보였음.

이 결과들은 Histopathology(IF;3.454). PloS One (IF;3.234)에 발표 하였으며 추가 논문을 준비중임.

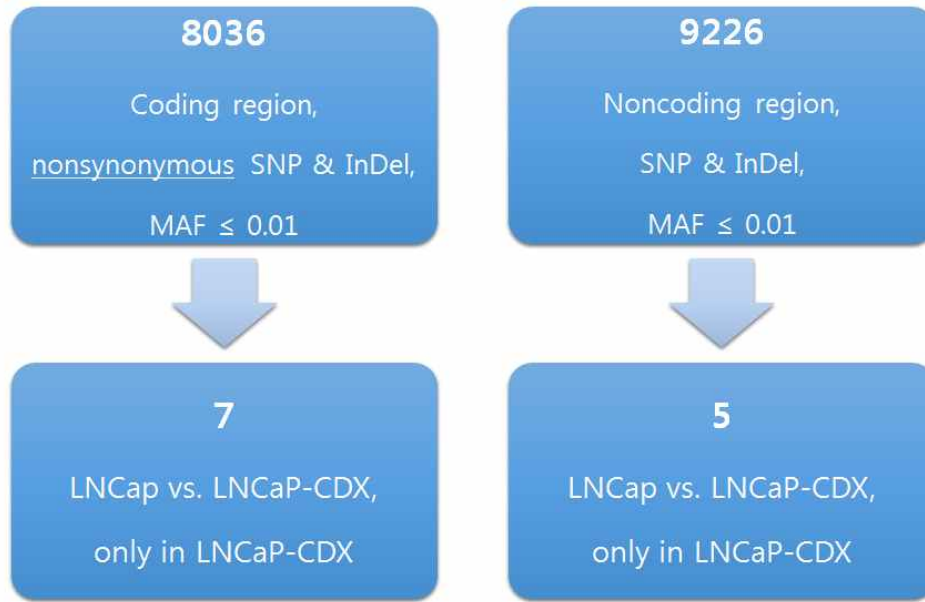
호르몬에 반응하는 전립선암세포주으로써 흔히 실험에 사용하는 LNCap세포주를 장기간 배양 하면서, 호르몬 치료에 사용하는 약제인 Casodex를 처리하였음.

10uM-100uM까지 다양한 농도로 배양하여, 50uM에서 종양세포가 거의 증식하지 않는 적절한 농도로 정하고 6개월간 배양하였음.

동결 보관후 다시 해동하여 같은 성질을 유지하고 있음을 확인 후에 실험에 이용함. 원래 의 세포주와 함께 NGS를 이용하여 exome sequencing을 시행하였음.

이와 동시에 호르몬 불응성 종양환자의 경요도 수술을 통하여 얻어진 종양조직(3예)에 대

하여 exome sequencing을 시행하였음.



sample	yield	read	N%	GC%	Q20	Q30
LNCap	28,678,336,526	283,943,926	0.0497	50.61	94.45	88.76
LNCap-CDX	14,644,781,032	144,997,832	0.0506	46.7	95.57	90.6
Prostate_01_GSS_ex_T	16,829,725,748	166,630,948	0.0519	45.88	96.08	91.48
Prostate_02_LSY_ex_T	18,507,803,984	183,245,584	0.052	45.78	95.95	91.32
Prostate_03_HPS_ex_T	15,698,326,374	155,428,974	0.0515	46.03	95.89	91.2

		LNCap	LNCap-CDX	Prostate_01_GSS_ex_T	Prostate_02_LSY_ex_T	Prostate_03_HPS_ex_T	Total
SNP	synonymous	13140	13004	11780	11697	11481	21525
	nonsynonymous	14190	14078	11411	11300	11167	23302
	stopgain&loss	310	303	124	113	123	443
	unknown	486	462	464	454	410	753
	noncoding	17419	15074	13001	13555	12754	29712
	frameshift	558	565	161	172	156	684
	nonframeshift	396	383	333	334	333	555
InDel	stopgain	9	9	5	4	6	13
	unknown	85	81	80	80	82	91
	noncoding	4241	3940	2709	2772	2748	5271

SNP-InDel 결과.

LNCaP vs. LNCaP-CDX

	LNCap	LNCap-CDX	Tissue_01	Tissue_02	Tissue_03
LNCap					
LNCap-CDX	4949				
Tissue_01	1010	919			
Tissue_02	1094	1016	4153		
Tissue_03	1105	1013	4147	4226	

Cell line / Tissue 끼리 concordant

Chr	Start	End	Ref	Alt	cosmic65	snp137	LNCap	LNCap-CDX	P01	P02	P03		
chrX	66765159	66765164	GCAGCA	-	exonic	AR	nonFS del		0/0	0/0	0/1	1/1	0/0
chrX	66943552	66943552	A	G	exonic	AR	ns SNV	O O	1/1	1/1	0/0	0/0	0/0
chr13	32900264	32900264	T	C	exonic	BRCA2	ns SNV		0/0	0/0	0/0	0/0	0/1
chr17	41245131	41245131	G	C	exonic	BRCA1	ns SNV		0/0	0/0	0/0	0/0	0/1

흥미롭게 P03샘플에서는 BRCA 돌연변이가 관찰되었음.

Gene	Chr	Start	End	Ref	Alt	Func	Exonic Func	cosmic65	snp137	LNCaP		LNCaP-CDX		Prostate_01		Prostate_02		Prostate_03	
										ref	alt	ref	alt	ref	alt	ref	alt	ref	alt
TBC1D8	2	101767603	101767603	C	-	exonic	FS del			170	2	14	9	14	0	30	0	21	0
INMT	7	30797147	30797147	G	T	ncRNA		rs1138790		143	1	19	22	42	0	55	0	55	0
DOCK5	8	25269599	25269601	TTT	-	UTR3				0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
GNE	9	36216341	36216341	T	C	UTR3		rs10435799		135	0	59	28	97	36	101	0	123	27
MAP3K11	11	65367034	65367034	G	-	exonic	FS del	COSM194244 (large_intestine)		174	2	25	12	45	0	72	0	91	0
CCNF	16	2505467	2505469	AGG	-	exonic	nonFS del			199	4	50	30	84	0	151	0	113	0
TNRC6A	16	24835448	24835448	C	-	UTR3				0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
KIAA0895L	16	67214469	67214469	G	-	exonic	FS del			96	3	16	7	21	0	18	0	14	1
KAT2A	17	40273100	40273100	C	-	exonic	FS del			76	0	12	4	11	0	10	0	17	0
POM121L8P	22	21637998	21637998	G	A	ncRNA		rs28510405		10	0	2	1	1	1	1	3	2	1
GGT1	22	25007110	25007110	G	A	exonic	ns SNV	rs199516749		11	0	5	2	5	0	5	1	1	6
TRIOBP	22	38153807	38153818	GCCCCGACCCCA	-	exonic	nonFS del			71	2	7	6	15	0	15	0	11	0

Variants in hormone-resistant cell line (12 positions in 12 genes)

이상의 분석 결과 다음과 같은 흥미로운 유전자들의 변이가 관찰됨.

KAT2A : K(lysine) acetyltransferase 2A

KIAA0895L : KIAA0895-like

POM121L8P : POM121 membrane glycoprotein-like 8 (rat) pseudogene

TBC1D8 : TBC1 domain family

TRIOBP : TRIO and F-actin binding protein

CCNF : cyclin F

DOCK5 : dedicator of cytokinesis 5

GGT1 : gamma-glutamyltransferase 1

GNE : glucosamine (UDP-N-acetyl)-2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase

INMT : indolethylamine N-methyltransferase

MAP3K11 : mitogen-activated protein kinase 11

TNRC6A : trinucleotide repeat containing 6A

이상의 유전자들에 대한 추가 분석을 시행할 예정임.

추가적인 분석을 위하여 보다 많은 CRPC환자의 조직을 확보 및 추가 연구가 필요하리라 생각함.

3차년도 연구중 whole genome sequencing(WGS) 9예를 시행하였음. WGS 데이터는 자료가 방대하여 분석중에 있으며 연구기간 후에도 추가적인 분석예정임.

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

4-1. 목표달성도	
연구기간중 연구 목표치를 상회하는 수의 exome sequencing을 수행하였음.	
부수적으로 whole genome sequencing을 시행하였으며, 그 자료를 분석중임.	
당초 연구계획에 없던 호르몬 불응성 환자의 분석을 통하여 호르몬 불응성의 기전 연구에 도움이 되리라 생각함.	
4-2. 관련분야 기여도	
본 연구의 결과는 한국인 전립선환자의 데이터를 확보했다는 의미가 있으며, 추후 전립선암의 발병, 진행, 전이 등의 기전 연구 및 환자의 진단 및 치료를 위한 개발시 기본자료를 확보 했다는 의의가 있음.	

구분	세부연구목표	가중치(%)	평가의 착안점 및 척도	목표달성도
1차년도 (2013)	연구대상 환자의 임상자료 및 DNA 검체 확보	50	환자수(30명)	200% (85예/10개월)
	exome sequencing 분석 및 표현형 분석	40	돌연변이수(10개)	분석
	연구 논문	10	SCI(E) 등재 논문(2개)	
2차년도 (2014)	연구대상 환자의 임상자료 및 DNA 검체 추가 확보	50	환자수(30명)	100%
	whole exome sequencing을 통한 유전자 분석	20	whole exome sequencing 실험	100%
	염기서열 분석 및 후보 유전자 발굴 및 sequencing을 통한 validation study	20	sequencing case (60명)	100%
	연구 논문	10	SCI(E) 등재 논문(2개)	
3차년도 (2015)	연구대상 환자의 임상자료 및 DNA 검체 추가 확보	10	환자수(30명)	100%
	염기서열 분석 및 후보 유전자 발굴 및 sequencing을 통한 validation study	50	sequencing case (30명)	100%
	후보유전자 validation study를 통한 신규 원인 유전자 발굴	30	신규 원인유전자 (2개)	100%
	연구 논문	10	SCI(E) 등재 논문(2개)	논문 발표 및 준비중

5. 연구결과의 활용계획

- 본 연구에서 확보된 환자들의 유전자 데이터를 바탕으로 전립선암환자의 진단 및 치료에 도움이 되는 진단 키트 개발에 활용할 수 있으리라 생각함.
- 전립선암의 경우 암의 특성상 신선조직의 확보가 힘들고, 생검의 경우 조직의 크기가 작아 NGS기술을 직접 적용하는데 애로사항이 있음.
- 본 연구를 통하여 확보된 기본 데이터들은 추후 생검조직에서의 연구를 위한 기본 자료 및 비교 대상이 될 것으로 생각함.
- 본 연구에서의 자료는 전립선암의 유전자 변이를 연구하는데 아주 중요한 데이터를 확보하여다는 점에서 큰 의미가 있으며, 정밀의학 및 환자 맞춤형학연구의 진일보에 기여하는 연구 결과라 생각됨.

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 전세계적으로 암의 유전자 연구결과는 public data형태로 모아지고 저장되고 있음.
- TCGA가 가장 대표적인 예로 현재 498예의 전립선암에 대한 데이터가 모여져 있음.
- 본 연구에서도 TCGA 데이터와 비교하면서 유사점과 차이점을 비교 분석하고 있음.

THE CANCER GENOME ATLAS
National Cancer Institute
National Human Genome Research Institute

[TCGA Home](#) | [Contact Us](#) | [For the Media](#)

Home
Download Data
Tools
About the Data
Publication Guidelines

Home > Cancer Details

Prostate adenocarcinoma: Case Counts

Target number of Prostate adenocarcinoma samples:
500 (number subject to change)

Prostate adenocarcinoma [PRAD]	Total	Exome ¹	SNP	Methylation	mRNA	miRNA	Clinical
Cases	498	498	495	498	497	494	497
Organ-Specific Controls ²	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

¹Raw exome data are available at [CGHub](#). Variant calling data are available via the links under Exome above.

²Organ-Specific Controls are derived from donor material taken from individuals not matched to the tumors in this study. Specifically, these tissues would be from individuals that did not have cancer but were able to donate tissue for other reasons (e.g. rapid autopsy programs, organ procurement programs, etc). N/A means that organ-specific tissue control data have not yet been collected for this tumor type by The Cancer Genome Atlas.

The TCGA Data Portal does not host lower levels of sequence data. NCI's [Cancer Genomics Hub \(CGHub\)](#) is the new secure repository for storing, cataloging, and accessing BAM files and metadata for sequencing data.

Announcements

07/27/2015 - Software release

On July 28th, 2015 the DCC will have a software release that will start at 8AM EST (GMT -5) and last for approximately one hour. During this time the TCGA Data Portal will be unavailable. This release will address a bug that was preventing compressed VCF files (.vcf.gz) from being displayed in the Data Matrix and File Search.

If you have any questions or concerns, contact tcga-dcc-bin-f-i@list.nih.gov.

07/09/2015 - Software release

The DCC has successfully completed the software release scheduled for today. Details about this release can be found on the TCGA Wiki: <https://wiki.nci.nih.gov/x/coCyEQ>.

Questions or concerns about this release can be directed to tcga-dcc-bin-f-i@list.nih.gov.

[See all announcements](#)

7. 연구개발과제의 대표적 연구실적

번호	구분 (논문 /특허 /기타)	논문명/특허명/기타	소속 기관명	역할	논문게재지/ 특허등록국 가	Impact Factor	논문게재일 /특허등록일	사사여부 (단독사사 또는 중복사사)	특기사항 (SCI여부/인 용횟수 등)
1	논문	PLoS One	국립암센 터	책임	미국	3.234	2015-04-21	사사	SCI
2	논문	Histopathology	국립암센 터	공동	미국	3.453	2015		SCI
3							yyyy.mm.dd		
4							yyyy.mm.dd		
5							yyyy.mm.dd		

논문명	저자 (저자구분 ¹⁾)	저널명(I.F.)	Year ; Vol(No):Page	구분 ²⁾	지원과제번호 ³⁾ -
Cytidine Deaminase as a Molecular Predictor of Gemcitabine Response in Patients with Biliary Tract Cancer: Oncology. Online:Published	(공동)	Oncology (2.422)	2015	국외SCI	
Overexpression of BRCA1 or BRCA2 in prostatectomy specimens is predictive of biochemical recurrence after radical prostatectomy: Histopathology. Online:Published	(공동)	Histopathology (3.453)	2015	국외SCI	1210110
The prevalence and outcomes of pT0 disease after neoadjuvant hormonal therapy and radical prostatectomy in high-risk prostate cancer.: BMC urology. Online:Published	(공동)	BMC urology (1.413)	2015-08-13	국외SCI	
Overexpression of ERG and wild-type PTEN are associated with favorable clinical prognosis and low biochemical recurrence in prostate cancer:	(책임)	PloS one (3.234)	2015-04-21	국외SCI	1310330
Oncologic aspects of long-term followed incidental prostate cancer detected by cystoprostatectomy in Korean patients.	(공동)	Prostate international	2015-06-01		
Experience of successful treatment for an intractable advanced ureter cancer with extraureteral extension using omental flap transposition: A case report:	(공동)	Journal of Clinical Case Reports. :~(0)	2014-09-24	국외SCI	

Human papillomavirus-related cell cycle markers can predict survival outcomes following a transoral lateral oropharyngectomy for tonsillar squamous cell carcinoma.:	(책임)	Journal of surgical oncology. 110(4):393~399 (2.843)	2014-09-01	국외SCI	1210220
Antitumor activity of the c-Myc inhibitor KSI-3716 in gemcitabine-resistant bladder cancer	(공동)	Oncotarget, Vol. 5, No. 2			1210070 1310381
Low Grade Chondrosarcoma Presenting as Progressive Valgus Limb Deformity in a Growing Period:	(공동)	The Journal of the Korean Bone and Joint Tumor Society. 20:41~45 (0)		국외SCI	
Treatment outcome of docetaxel plus prednisolone for metastatic castration-resistant prostate cancer in Korea:	(공동)	Journal of Cancer Research and Therapeutics. (0.949)	2014. 10(2):251-257	국외SCI	
Intravesical instillation of c-MYC inhibitor KSI-3716 suppresses orthotopic bladder tumor growth: The Journal of Urology. 191(2):510~518 (3.753)	(공동)	The Journal of Urology(3.696)	2014. 191(2):510~518	국외SCI	
Genetic Variations of AMACR are Associated with Sporadic Prostate Cancer Risk in Ethnically Homogenous Koreans	(공동)	BioMed Res Int (2.880)	2013:1~11	국외SCI	
Frequent expression of follicular dendritic cell markers in Hodgkin lymphoma and anaplastic large cell lymphoma.	(공동)	Journal of clinical pathology(2.439)	2013;66(7) 589-596	국외SCI	
Overestimation of Nuclear Matrix Protein 22 in Concentrated Urine	(공동)	Urology (2.44)	2013.9 Epub	국외SCI	
Acquired cystic disease-associated renal cell carcinoma: further characterization of the morphologic and immunopathologic features	(공동)	MEDICAL MOLECULAR MORPHOLOGY(1.171)	2013		

논문명	저자	학술대회명	지역1)	지원과제번호
Mutation Profiling of Prostate Cancer in Korean Population	박원서(교신)	대한병리학회, 2014	국내	
Poster ERG의 과발현과 근치적 전립선 수술 후 발생하는 전립선암의 생화학적 재발과의 유의한 상관 관계	공동	대한비뇨기과학회, 2013	국내	
병리적 국소진행성 전립선 암 환자의 근치적 전립선 적출 수술 후 절제연에 미치는 영향인자에 관한 연구: 출혈량 및 30% 이상의 종양 부피의 중요성	공동	대한비뇨기과학회, 2013	국내	

8. 참여연구원 현황

번호	소속기관명	직위	생년월일	전공 및 학위		연구담당 분야
	성명	과학기술인등록번호	성별	취득년도	학위(전공)	과제참여기간
	국립암센터 박원서					

9. 기타사항

○

10. 참고문헌

Al Bashir S, Alshalalfa M, Hegazy SA, Dolph M, Donnelly B, Bismar TA. Cysteine- rich secretory protein 3 (CRISP3), ERG and PTEN define a molecular subtype of prostate cancer with implication to patients' prognosis. Journal of hematology & oncology. 2014; 7:21. PMID: 24606912. Pubmed Central PMCID: PMC3975646. Epub 2014/03/13. eng.

Antonarakis ES, Keizman D, Zhang Z, Gurel B, Lotan TL, Hicks JL, et al. An immunohistochemical signature comprising PTEN, MYC, and Ki67 predicts progression in prostate cancer patients receiving adjuvant docetaxel after prostatectomy. *Cancer*. 2012 Dec 15; 118(24):6063-71. PMID: 22674438. Pubmed Central PMCID: PMC3572534. Epub 2012/06/08. eng. doi: 10.1002/cncr.27689

Attard G, Clark J, Ambrosine L, Fisher G, Kovacs G, Flohr P, et al. Duplication of the fusion of TMPRSS2 to ERG sequences identifies fatal human prostate cancer. *Oncogene*. 2008 Jan 10; 27(3): 253-63. PMID: 17637754. Pubmed Central PMCID: 2646890. Epub 2007/07/20. eng.

Bismar TA, Dolph M, Teng LH, Liu S, Donnelly B. ERG protein expression reflects hormonal treatment response and is associated with Gleason score and prostate cancer specific mortality. *European journal of cancer (Oxford, England: 1990)*. 2012 Mar; 48(4):538-46. PMID: 22300588. Epub 2012/02/04. eng.

Carver BS, Tran J, Chen Z, Carracedo-Perez A, Alimonti A, Nardella C, et al. ETS rearrangements and prostate cancer initiation. *Nature*. 2009 Feb 12; 457(7231):E1; discussion E2-3. PMID: 19212347. Pubmed Central PMCID: 2967456. Epub 2009/02/13. eng. doi: 10.1038/nature07738

Carver BS, Tran J, Gopalan A, Chen Z, Shaikh S, Carracedo A, et al. Aberrant ERG expression cooperates with loss of PTEN to promote cancer progression in the prostate. *Nature genetics*. 2009 May; 41(5): 619-24. PMID: 19396168. Pubmed Central PMCID: 2835150. Epub 2009/04/28. eng. doi: 10.1038/ng. 370

Chaux A, Albadine R, Toubaji A, Hicks J, Meeker A, Platz EA, et al. Immunohistochemistry for ERG expression as a surrogate for TMPRSS2-ERG fusion detection in prostatic adenocarcinomas. *The American journal of surgical pathology*. 2011 Jul; 35(7):1014-20. PMID: 21677539. Pubmed Central PMCID: PMC3505676. Epub 2011/06/17. eng. doi: 10.1097/PAS.0b013e31821e8761

Cookson MS, Aus G, Burnett AL, Canby-Hagino ED, D'Amico AV, Dmochowski RR, et al. Variation in the definition of biochemical recurrence in patients treated for localized prostate cancer: the American Urological Association Prostate Guidelines for Localized Prostate Cancer Update Panel report and recommendations for a standard in the reporting of surgical outcomes. *The Journal of urology*. 2007 Feb; 177(2):540-5. PMID: 17222629. Epub 2007/01/16. eng.

Demichelis F, Fall K, Perner S, Andren O, Schmidt F, Setlur SR, et al. TMPRSS2:ERG gene fusion associated with lethal prostate cancer in a watchful waiting cohort. *Oncogene*. 2007 Jul 5; 26(31):4596-9. PMID: 17237811. Epub 2007/01/24. eng.

Epstein JI, Allsbrook WC Jr., Amin MB, Egevad LL. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *The American journal of surgical pathology*. 2005 Sep; 29(9):1228-42. PMID: 16096414. Epub 2005/08/13. eng.

Falzarano SM, Zhou M, Hernandez AV, Klein EA, Rubin MA, Magi-Galluzzi C. Single focus prostate cancer: pathological features and ERG fusion status. *The Journal of urology*. 2011 Feb; 185(2):489-94. PMID: 21167530. Epub 2010/12/21. eng. doi: 10.1016/j.juro.2010.09.093

Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2010 Dec 15; 127(12):2893-917. PMID: 21351269. Epub 2011/02/26. eng. doi: 10.1002/ijc.25516

Furusato B, van Leenders GJ, Trapman J, Kimura T, Egawa S, Takahashi H, et al. Immunohistochemical ETS-related gene detection in a Japanese prostate cancer cohort: diagnostic use in Japanese prostate cancer patients. *Pathology international*. 2011 Jul; 61(7):409-14. PMID: 21707844. Epub 2011/06/29. eng. doi: 10.1111/j.1440-1827.2011.02675.x

Gronberg H. Prostate cancer epidemiology. *Lancet*. 2003 Mar 8; 361(9360):859-64. PMID: 12642065. Epub 2003/03/19. eng.

Grupp K, Hohne TS, Prien K, Hube-Magg C, Tsourlakis MC, Sirma H, et al. Reduced CD147 expression is linked to ERG fusion-positive prostate cancers but lacks substantial impact on PSA recurrence in patients treated by radical prostatectomy. *Experimental and molecular pathology*. 2013 Oct; 95(2): 227-34. PMID: 23948277. Epub 2013/08/21. eng. doi: 10.1016/j.yexmp.2013.08.002

Han B, Mehra R, Lonigro RJ, Wang L, Suleman K, Menon A, et al. Fluorescence in situ hybridization study shows association of PTEN deletion with ERG rearrangement during prostate cancer progression. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2009 Aug; 22(8):1083-93. PMID: 19407851. Pubmed Central PMCID: 2760294. Epub 2009/05/02. eng.

Hoogland AM, Jenster G, van Weerden WM, Trapman J, van der Kwast T, Roobol MJ, et al. ERG immunohistochemistry is not predictive for PSA recurrence, local recurrence or overall survival after radical prostatectomy for prostate cancer. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2012 Mar; 25(3):471-9. PMID: 22080055. Epub 2011/11/ 15. eng.

Kim J, Yu J. Interrogating genomic and epigenomic data to understand prostate cancer. *Biochimica et biophysica acta*. 2012 Apr; 1825(2):186-96. PMID: 22240201. Pubmed Central PMCID: PMC3307852. Epub 2012/01/14. eng. doi:

10.1016/j.bbcan.2011.12.003

Kimura T, Furusato B, Miki J, Yamamoto T, Hayashi N, Takahashi H, et al. Expression of ERG oncoprotein is associated with a less aggressive tumor phenotype in Japanese prostate cancer patients. *Pathology international*. 2012 Nov; 62(11):742-8. PMID: 23121605. Epub 2012/11/06. eng. doi: 10.1111/ pin.12006

Krohn A, Diedler T, Burkhardt L, Mayer PS, De Silva C, Meyer-Kornblum M, et al. Genomic deletion of PTEN is associated with tumor progression and early PSA recurrence in ERG fusion-positive and fusion-negative prostate cancer. *The American journal of pathology*. 2012 Aug; 181(2):401-12. PMID: 22705054. Epub 2012/06/19. eng. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.04.026

Leinonen KA, Saramaki OR, Furusato B, Kimura T, Takahashi H, Egawa S, et al. Loss of PTEN Is Associated with Aggressive Behavior in ERG-Positive Prostate Cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2013 Nov 27. PMID: 24083995. Epub 2013/10/03. Eng.

Magi-Galluzzi C, Tsusuki T, Elson P, Simmerman K, LaFargue C, Esgueva R, et al. TMPRSS2-ERG gene fusion prevalence and class are significantly different in prostate cancer of Caucasian, African-American and Japanese patients. *The Prostate*. 2011 Apr; 71(5):489-97. PMID: 20878952. Epub 2010/09/30. eng. doi: 10.1002/pros.21265

Mao X, Yu Y, Boyd LK, Ren G, Lin D, Chaplin T, et al. Distinct genomic alterations in prostate cancers in Chinese and Western populations suggest alternative pathways of prostate carcinogenesis. *Cancer research*. 2010 Jul 1; 70(13):5207-12. PMID: 20516122. Pubmed Central PMCID: 2896548. Epub 2010/06/03. eng. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4074

Minner S, Enodien M, Sirma H, Luebke AM, Krohn A, Mayer PS, et al. ERG status is unrelated to PSA recurrence in radically operated prostate cancer in the absence of antihormonal therapy. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2011 Sep 15; 17(18): 5878-88. PMID: 21791629. Epub 2011/07/28. eng. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1251

Mosquera JM, Mehra R, Regan MM, Perner S, Genega EM, Bueti G, et al. Prevalence of TMPRSS2-ERG fusion prostate cancer among men undergoing prostate biopsy in the United States. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2009 Jul 15; 15(14):4706-11. PMID: 19584163. Pubmed Central PMCID: 3717524. Epub 2009/07/09. eng. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2927

Nagle RB, Algotar AM, Cortez CC, Smith K, Jones C, Sathyanarayana UG, et al. ERG overexpression and PTEN status predict capsular penetration in prostate carcinoma. *The Prostate*. 2013 Aug; 73(11): 1233-40. PMID: 23653096. Pubmed Central PMCID: PMC4038303. Epub 2013/05/09. eng. doi: 10.1002/pros.22675

Park K, Tomlins SA, Mudaliar KM, Chiu YL, Esgueva R, Mehra R, et al. Antibody-based detection of ERG rearrangement-positive prostate cancer. *Neoplasia (New York, NY)*. 2010 Jul; 12(7):590-8. PMID: 20651988. Pubmed Central PMCID: 2907585. Epub 2010/07/24. eng.

Perner S, Mosquera JM, Demichelis F, Hofer MD, Paris PL, Simko J, et al. TMPRSS2-ERG fusion prostate cancer: an early molecular event associated with invasion. *The American journal of surgical pathology*. 2007 Jun; 31(6):882-8. PMID: 17527075. Epub 2007/05/29. eng.

Petrovics G, Liu A, Shaheduzzaman S, Furusato B, Sun C, Chen Y, et al. Frequent overexpression of ETS-related gene-1 (ERG1) in prostate cancer transcriptome. *Oncogene*. 2005 May 26; 24(23): 3847-52. PMID: 15750627. Epub 2005/03/08. eng.

Reid AH, Attard G, Brewer D, Miranda S, Riisnaes R, Clark J, et al. Novel, gross chromosomal alterations involving PTEN cooperate with allelic loss in prostate cancer. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2012 Jun; 25(6):902-10. PMID: 22460813. Epub 2012/03/31. eng.

Rubin MA, Maher CA, Chinnaiyan AM. Common gene rearrangements in prostate cancer. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2011 Sep 20; 29(27): 3659-68. PMID: 21859993. Epub 2011/08/24. eng.

Saramaki OR, Harjula AE, Martikainen PM, Vessella RL, Tammela TL, Visakorpi T. TMPRSS2:ERG fusion identifies a subgroup of prostate cancers with a favorable prognosis. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2008 Jun 1; 14(11):3395-400. PMID: 18519769. Epub 2008/06/04. eng. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-2051

Sim HG, Cheng CW. Changing demography of prostate cancer in Asia. *European journal of cancer (Oxford, England: 1990)*. 2005 Apr; 41(6):834-45. PMID: 15808953. Epub 2005/04/06. eng.

Spencer ES, Johnston RB, Gordon RR, Lucas JM, Ussakli CH, Hurtado-Coll A, et al. Prognostic value of ERG oncoprotein in prostate cancer recurrence and cause-specific mortality. *The Prostate*. 2013 Jun; 73(9):905-12. PMID: 23334893. Pubmed Central PMCID: 3677047. Epub 2013/01/22. eng. doi: 10.1002/pros.22636

Sreenath TL, Dobi A, Petrovics G, Srivastava S. Oncogenic activation of ERG: A predominant mechanism in prostate cancer. *Journal of carcinogenesis*. 2011; 10:37. PMID: 22279422. Pubmed Central PMCID: 3263025. Epub 2012/01/27. eng. doi: 10.4103/1477-3163.91122

Suh JH, Park JW, Lee C, Moon KC. ERG immunohistochemistry and clinicopathologic characteristics in Korean prostate adenocarcinoma patients. *Korean journal of pathology*. 2012 Oct; 46(5):423-8. PMID: 23136568. Pubmed Central PMCID: PMC3490118. Epub 2012/11/09. eng. doi: 10.4132/KoreanJPathol.2012.46.5.423

Tomlins SA, Palanisamy N, Siddiqui J, Chinnaiyan AM, Kunju LP. Antibody-based detection of ERG rearrangements in prostate core biopsies, including diagnostically challenging cases: ERG staining in prostate core biopsies. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2012 Aug; 136(8):935-46. PMID: 22849743. Pubmed Central PMCID: PMC3667408. Epub 2012/08/02. eng.

van Leenders GJ, Boormans JL, Vissers CJ, Hoogland AM, Bressers AA, Furusato B, et al. Antibody EPR3864 is specific for ERG genomic fusions in prostate cancer: implications for pathological practice. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2011 Aug; 24(8):1128-38. PMID: 21499236. Epub 2011/04/19. eng.

Verdu M, Trias I, Roman R, Rodon N, Garcia-Pelaez B, Calvo M, et al. ERG expression and prostatic adenocarcinoma. *Virchows Archiv: an international journal of pathology*. 2013 Jun; 462(6):639-44. PMID: 23703293. Epub 2013/05/25. eng. doi: 10.1007/s00428-013-1415-3

Vogel UF, Bueltmann BD. Simple, inexpensive, and precise paraffin tissue microarrays constructed with a conventional microcompound table and a drill grinder. *American journal of clinical pathology*. 2006 Sep; 126(3):342-8. PMID: 16880136. Epub 2006/08/02. eng.

Yoshimoto M, Joshua AM, Cunha IW, Coudry RA, Fonseca FP, Ludkovski O, et al. Absence of TMPRSS2:ERG fusions and PTEN losses in prostate cancer is associated with a favorable outcome. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2008 Dec; 21(12):1451-60. PMID: 18500259. Epub 2008/05/27. eng.

<별첨작성 양식>

[별첨]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	1310330		
사업구분	기관고유연구사업				
연구분야	창의(일반연구)과제			과제구분	단위
사업명	기관고유연구사업				주관
총괄과제	차세대 염기 서열 분석을 이용한 전립선암의 엑솜 서열 비교 분석			총괄책임자	박원서
과제명	차세대 염기 서열 분석을 이용한 전립선암의 엑솜 서열 비교 분석			과제유형	(기초, 응용, 개발)
연구기관	국립암센터			연구책임자	박원서
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	연구비	민간	계
	1차년도	2013	100,000		100,000
	2차년도	2014	100,000		100,000
	3차년도	2015	80,000		80,000
	계		280,000		280,000
참여기업					
상대국	상대국연구기관				

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2015.11.

3. 평가자(과제책임자) :

소속	직위	성명
국립암센터	책임연구원	박원서

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	박원서
----	-----

I. 연구개발실적

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

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

차세대 유전자 서열분석 기법을 이용한 전립선암의 유전자 분석을 통하여 국내 전립선암의 분자 유전학적 변이를 연구하는데 필요한 기초적인 자료를 발굴하였음.
환자의 임상상에 따른 분석을 시행하였고, 이를 단백질 수준에서 규명하였음.

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

국내에서 급속한 속도로 빈도가 증가하는 전립선암의 유전자 변이를 연구한 국내의 연구로 추후 연구를 위한 기초 자료가 될 것임.
환자의 임상적 특징에 따라 비교 분석하여 추후 환자의 치료에 적용될 가능성이 높음.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

본 연구결과 분석을 통하여 환자의 임상상을 반영할 수 있는 인자 발굴을 통하여, 환자의 임상상을 예측할 수 있을 것으로 생각함.
이를 이용하면 환자 치료방법이나 치료기간 등의 선택에 반영할 수 있으리라 생각함.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

한정된 연구비를 재원으로 상당한 수준의 연구를 수행하였다고 생각함.
일부 서열분석은 목표치를 상회하는 숫자를 수행함.
동결조직의 확보, 유전자분석, IHC 등 연구 계획서상의 연구를 성실히 수행하였음.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수, 우수, 보통, 미흡, 불량)

연구결과가 후반에 도출되어 분석에 시간이 너무 많이 걸리는 바 논문발표가 미흡하였음.

그러나 연구기간 중 각종 연구회, 학회에서의 발표를 꾸준히 수행하였음.

연구기간 후에도 꾸준한 분석을 통하여 연구논문을 발표할 예정이며, 연구대상의 특성상 장기간의 추적관찰이 필요한바 앞으로도 꾸준한 연구 논문발표가 기대됨.

본연구를 통하여 전립선암의 유전자 연구를 위한 네트워크와 인프라가 구축된바 추후 연구를 수행하면서 많은 성과가 도출될것으로 기대함.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체 평가
연구대상 환자의 임상자료 및 DNA 검체 추가 확보	10	100	목표 달성
염기서열 분석 및 후보 유전자 발굴 및 sequencing을 통한 validation study	50	100	목표 추가 달성
후보유전자 validation study를 통 한 신규 원인 유전자 발굴	30	100	목표 달성
연구 논문	10	5	목표 미 달성
합계	100점		

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

본 연구에서 전립선암의 파라핀 조직 및 동결조직을 확보하고, 총 50쌍 (100샘플)의 exome을 분석하였음.

본 연구에서는 아주 효율적으로 연구를 수행하여 많은 양의 샘플을 분석할 수 있었음.

본 연구를 통하여 한국인 전립선암의 분자 유전학적 연구에 필요한 기본적인 자료가 확보하였고 추후 전립선암의 연구를 위한 인적 물적 인프라와 네트워크가 구축되었다고 생각함.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

본 연구를 통하여 환자의 유전정보 및 단백질 발현(IHC) 데이터를 확보하였음.

이 많은 양의 데이터들을 환자의 각종 임상지표들과 비교 분석하는 작업이 필요하며, 전립암은 비교적 예후가 좋은 암으로 보다 장기간의 추적 관찰이 필요함.

본 연구기간의 연구로 많은 논문을 출간하기는 쉽지 않은 바, 연구 기간 종료 후에도 지속적인 연구와 분석을 통하여 연구 업적을 발표할 예정임. 본 연구를 통하여 구축된 인프라는 추가 연구에 큰 도움이 되리라 생각함.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

본 연구를 통하여 차세대 서열 분석 기술의 임상적 적용 가능성을 확인하였고, 향후 관련 연구 분야의 발전에 기여하였다고 생각함.

본 연구 결과에서 발굴된 전립선암 관련 유전체 변이는 추후 전립선암의 진단, 치료, 예방에 필요한 중요한 자료로 활용될 것으로 기대됨.

전립선암에 대한 이해를 넓힐 수 있는 향후 추가적인 연구를 위한 기반을 구축된 중요한 연구라고 생각함.

IV. 보안성 검토

o 연구책임자의 보안성 검토의견, 연구기관 자체의 보안성 검토결과를 기재함

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

--

2. 연구기관 자체의 검토결과

--