

최종보고서 [기관고유연구사업]

과제고유번호	1510650-1	연구분야 (코드)	LC0206	지원 프로그램	창의 모험 연구 과제	공개가능여부 (공개, 비공개)	공개
연구사업명	국립암센터 기관고유연구사업						
연구과제명	신세포암에서 BAP1/PBRM1 유전자 변이 및 혈관형성 관련인자 발현의 임상적 의의에 관한 연구						
과제책임자	성명	정진수	소속	비뇨생식기암 연구과	직위	책임연구원 (연구(의사직))	
세부과제	구분	과제명			과제책임자		
					성명	소속(직위)	전공
총연구기간	2015년 03월 ~ 2015년 12월 (총 10개월)	해당단계 참여 연구원 수	총: 8 명 내부: 6 명 외부: 2 명	해당단계 연구개발비	연구비: 30,000천원 민간: 천원 계: 천원		
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 명 내부: 명 외부: 명		총연구개발비	연구비: 천원 민간: 천원 계: 천원	
연구기간 및 연구비 (단위: 천원)	구분	연구기간	계	국립암센터	기업부담금		
	계	2015.03.01 ~2015.12.31	10개월	30,000	소계	현금	현물
	제1차	~					
	제2차	~					
	제3차	~					
참여기업	참여기업명 :						
국제공동연구	상대국명:				상대국 연구기관명:		
위탁연구	연구기관명:				연구책임자:		

한국인 신세포암에서 BAP1, PBRM1 유전자 변이의 임상적 의의에 대한 고찰 및 전이성 신세포암에 대한 Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) 치료 반응을 예측할 수 있는 tissue-based molecular biomarker의 도출을 위해 저장된 신세포암 조직에서 Tissue microarray (TMA)를 이용하여 한국인에서의 BAP1, PBRM1 유전자 변이의 빈도, 예후인자로서의 가치(임상적 의의)에 대한 연구 및 전이성 신세포암에 대한 TKIs치료시 치료 반응을 예측할 수 있는 tissue-based molecular biomarker로써 BAP1, PBRM1 유전자변이관련인자, 혈관 형성(angiogenesis) 관련인자, vascularity 관련인자, TGase-2, PD-L1 등의 임상적 가치에 대한 Pilot 연구를 시행하여 임상 Data와 지속적인 결과 분석중임.

2016년 03월 07 일

과제책임자 : 정진수 (인)

국립암센터 원장 귀하

< 국문 요약문 >

<p>연구의 목적 및 내용</p>	<p><최종목표></p> <ul style="list-style-type: none"> - 한국인 신세포암에서 BAP1, PBRM1 유전자 변이의 임상적 의의에 대한 고찰 - 전이성 신세포암에 대한 Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) 치료 반응을 예측할 수 있는 tissue-based molecular biomarker의 도출 <p><당해연도목표></p> <ul style="list-style-type: none"> - 저장된 신세포암 조직에서 Tissue microarray (TMA)를 이용하여 한국인에서의 BAP1, PBRM1 유전자 변이의 빈도, 예후인자로서의 가치(임상적 의의)에 대한 연구 - 전이성 신세포암에 대한 TKIs치료시 치료 반응을 예측할 수 있는 tissue-based molecular biomarker로써 BAP1, PBRM1 유전자변이관련인자, 혈관 형성 (angiogenesis) 관련인자, vascularity 관련인자, TGase-2, PD-L1 등의 임상적 가치에 대한 Pilot 연구 																
<p>연구개발성과</p>	<p><정량적 성과¹⁾></p> <table border="1" data-bbox="464 878 1399 1048"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>달성치/목표치¹⁾</th> <th>달성도(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SCI 논문 편수</td> <td>1(Accepted)/2(2016년까지)</td> <td>50%</td> </tr> <tr> <td>IF 합</td> <td>4(2016년까지)</td> <td>3.318</td> </tr> <tr> <td>기타 성과</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p><정성적 성과></p> <ul style="list-style-type: none"> - 한국인에서 BAP1, PBRM1 유전자 변이의 정도와 예후인자로서의 가치를 도출하고 검증하기위해 저장된 신세포암 조직(국소 434 조직 및 전이 341조직(전이병소 132포함) - 총 634 case)에서 Tissue microarray (TMA) 시행하고 분석중임. - 전이성 신세포암에 대한 TKIs 치료반응을 예측할 수 있는 후보 biomarker의 도출을 위해 103명의 전신치료환자군(면역치료, 표적치료)에서 전이신세포암 조직(원발 신장조직 및 전이조직 총 171조직)에 대한 TMA시행하여 현재 전체적인 결과 분석중이며, 부분적인 결과 도출함 - 신세포암에 대한 TMA 연구방법 확립 					구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)	SCI 논문 편수	1(Accepted)/2(2016년까지)	50%	IF 합	4(2016년까지)	3.318	기타 성과		
구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)															
SCI 논문 편수	1(Accepted)/2(2016년까지)	50%															
IF 합	4(2016년까지)	3.318															
기타 성과																	
<p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 한국인에서 BAP1, PBRM1 유전자 변이의 정도와 예후인자로서의 가치를 도출하고 검증함으로써, 환자의 예후 예측 및 추적관찰에 도움이 될 것으로 예상됨. - 본 예비연구의 결과 분석을 통해 전이성 신세포암에 대한 TKIs 치료반응을 예측할 수 있는 후보 biomarker를 도출하고, 추가적인 전향적 연구를 통해 예후 예측 및 TKIs 치료의 적절한 치료군 선택, 특히 이상적인 신보조치료 (neoadjuvant) 대상군 선별에 도움이 될 것으로 예상 																
<p>중심어 (5개 이내)</p>	<p>신세포암</p>	<p>생물학적 표지자</p>	<p>예후인자</p>	<p>표적치료</p>	<p>혈관형성</p>												

< 영문 요약문 >

< SUMMARY >

<p>Purpose& Contents</p>	<p>Purpose</p> <ul style="list-style-type: none"> - To evaluate the clinical value of BAP1/PBRM-1 mutation of renal cell carcinoma in Korea - To identify the tissue-based molecular biomarker for predicting the treatment outcomes in patient with metastatic renal cell carcinoma (mRCC) treated with Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) <p>Contents</p> <ul style="list-style-type: none"> - Study of BAP1, PBRM mutation and related factors with tissue from localized and/or metastatic renal cell carcinoma (Prospective and retrospective study using Tissue microarray (TMA) and Immunohistochemical staining (IHC)) - Pilot study of tissue-based molecular biomarker for predicting the outcome of TKIs treatment in mRCC with BAP1/PBRM-1 pretein expression, angiogenesis related factor, vascularity related factor, TGase-2, PD-L1, PSMA (Prospective and retrospective study using TMA and IHC) 				
<p>Results</p>	<ul style="list-style-type: none"> - BAP1, PBRM-1 protein expression by TMA and IHC of localized RCC (434 cases) - BAP1, PBRM-1 protein expression and expression of factors related to mTOR pathway(pS6, PTEN), angiogenesis(VHL-HIF-VEGF pathway; pVHL, HIF-1α, -2α, VEGFR 1,2,3, PDGFR-α, -β, CA-9), Vascularity (MVD, MVA; CD31, CD34, CD105, α-SMA), TGase-2, PD-L1, PSMA by TMA and IHC of metastatic RCC (257 tissue) - Evaluation of incidence and clinical value of BAP1, PBRM protein expression (mutation) in localized RCC (434 cases) - Evaluation of incidence and clinical value of BAP1, PBRM protein expression (mutation) in mRCC and patients with mRCC treated with systemic Tx (103 cases) - Evaluation of candidate tissue-based molecular biomarkers in patients with mRCC treated with systemic Tx(ImmunoTx, TKIs 103cases, 171 tissues) - Under analysis on the results of TMA with clinicopathologic findings and prognosis of patient with RCC (localized and metastatic) 				
<p>Expected Contribution</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Discovery and validation of clinical value (prognostic) of BAP1, PBRM-1 protein expression in patients with localized and mRCC - Discovery of candidate for tissue-based molecular predictive biomarker in mRCC with TKIs treatment - Baseline study for further prospective study with prognostic tissue-based biomarker (preditive,selecting) for TKIs and neoadjuvant TKIs treatment for advanced RCC - Establishment of TMA for renal cell carcinoma for further study 				
<p>Keywords</p>	<p>Kidney Cancer</p>	<p>biomarker</p>	<p>prognostic factor</p>	<p>targeted therapy</p>	<p>angiogenesis</p>

< 목 차 >

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

1. 연구개발과제의 개요

1-1. 연구개발 목적

○ 최종목표

- 한국인 신세포암에서 BAP1, PBRM1 유전자 변이의 임상적 의의에 대한 고찰
- 전이성 신세포암에 대한 Tyrosine kinase inhibitors (TKIs) 치료 반응을 예측할 수 있는 tissue-based molecular biomarker의 도출

○ 당해연도목표

- 저장된 신세포암 조직에서 Tissue microarray (TMA)를 이용하여 한국인에서의 BAP1, PBRM1 유전자 변이의 빈도, 예후인자로서의 가치(임상적 의의)에 대한 연구
- 전이성 신세포암에 대한 TKIs치료시 치료 반응을 예측할 수 있는 tissue-based molecular biomarker로써 BAP1, PBRM1 유전자변이관련인자, 혈관 형성(angiogenesis) 관련인자, vascularity 관련인자, TGase-2, PD-L1 등의 임상적 가치에 대한 Pilot 연구

1-2. 연구개발의 필요성

○ 신세포암은 국내에서 비뇨기계 암 중에서는 세 번째로 흔한 암으로, 2011년의 통계를 보면 전체 암 발생의 1.8%를 차지하고 있으며, 매년 그 발생이 증가하고 있음 (1999년 1,402명, 2004년 2,089명, 2007년 2,955명, 2010년 3,648명, 2011년 3,989 발생-중앙암등록자료). 미국 등 서구에서는 국내 보다 발생률이 높아 전체 암의 3%정도이며, 매년 2-3%씩 발생이 증가하고 있음. 2014년 미국에서는 약 65,000의 환자가 새롭게 신세포암으로 진단받고 13,000명 이상의 환자가 신세포암으로 사망할 것으로 추정되고 있음. 신세포암이 조기에 발견되는 경우에는 수술적 절제로 완치가 가능하나, 진단 당시에 이미 약 25-30% 정도의 환자는 타 장기로 전이가 발생한 상태로 발견되며, 국소 신세포암으로 근치적 수술을 시행하더라도 약 20-40%의 환자가 추적관찰기간 중 재발하거나 전이가 발생함. 신세포암은 전체적으로 사망률이 20~40%에 달해 비뇨기종양 중 가장 치명적인 암으로 알려져 있음. 또한 신세포암은 일반적인 다른 암과 달리 수술후 보조 치료로 확립된 치료가 없고, 같은 병기내에서도 다양한 임상 양상을 보이는 것으로 알려져 있음. 국소 신세포암의 수술후 재발, 예후를 예측할 수 있는 인자로 알려진 것은 TNM staging, Fuhrmann nuclear grading, lymphovascular invasion, sarcomatoid component 등의 clinicopathologic finding이 유일하며, 분자생물학적 biomarker가 없고, 특히 tumor marker조차 전무하여 추가적인 분자생물학적 예후 예측인자 (molecular biomarker)의 도출이 절실히 필요한 상황임.

○ 신세포암은 단순한 하나의 암이 아니라 그 기원세포, 유전자 및 염색체 변화가 다양한 여러 조직형으로 구성된 암으로, 조직학적 분류에 따른 조직형에 따라 임상 양상 및 치료에 대한 반응도 다른 특성을 가지고 있음. 그중에서 투명세포형 신세포암은 전체 신세포암의 75~80% 이상을 차지하는 대표적인 조직형으로, 이 조직형은 혈관이 풍부하고, 다른 장기로의 전이도 잘 일어나며, 면역치료 및 표적치료에 반응하는 특징을 가지고 있음. 다음으로 많은 조직형은 유두상 신세포암으로, 전체 신세포암의 10~15%를 차지하며, 그 외 혐색소성 신세포암이 3~5% 정도, 집뇨관 신세포암과 수질성 신세포암이 1% 미만으로 발견됨. 신세포암은 각각의 조직형에 따라 특이적인 다양한 유전자 변이가 발견되며, 신세포암의 대부분을 차지하는 투명세포형 신세포암은 von Hippel-Lindau (VHL) 유전자의 비활성화가 80~90%이상에서 발견되어 병인에 결정적인 역할을 한다고 알려져 있음. 최근 신세포암에 대한 여러 연구와 인간 유전체연구 등의 성과로 투명세포형 신세포암의 발생에 기존에 알려진 HIF-1 α 보다는 HIF-2 α 가 더 중요한 역할을 하며, 특히 VHL tumor suppressor gene의 이상 (신세포암 발생과정에서 early event로 추정됨)뿐만 아니라, Chromatin-histone regulator gene인 polybromo 1 (PBRM1), SET domain containing 2 (SETD2), lysine (K)-specific demethylase 5C (KDM5C), 그리고 BRCA1

associated protein-1 (ubiquitin carboxy-terminal hydrolase) (BAP1) 등의 유전자 변이도 다양하게 관찰되는 것으로 알려져 있음. 특히 투명세포형 신세포암의 15%정도에서 유전자 변이가 관찰되는 BAP1 유전자변이는 일률적으로 나쁜 예후(Hakimi AA et al, Eur Urology 2013, Pawlowski R et al, Int J Urology 2013)를 보인다는 보고와는 달리, 20-40%에서 유전자 변이가 관찰되어 (Varela I et al, Nature 2011, Hakimi AA et al, Eur Urology 2013) VHL gene 다음으로 흔한 유전자 변이로 알려진 PBRM1 유전자 변이는, BAP1 유전자변이보다 좋은 예후를 보인다는 보고와 함께 (Kapur P et al, Lancet Oncology 2013), 진행된 병기, 전이, 나쁜 예후와 관계가 있다는 상반된 보고도 있음. 즉 전반적으로 BAP1 유전자변이를 보이는 경우는 나쁜 예후를 보이는 것으로 인정되나, PBRM1 유전자 변이의 예후적 가치에 대해서는 아직도 상반된 결과를 보이고 있음 (Kapur P et al, J Urology 2014; Gossage L et al, Genes Chromosome & Cancer 2014; Joseph RW et al, Cancer 2014; Brugarolas J, Cancer J 2013). 그러나, 현재까지 전이 신세포암에 대한 표준 치료인 표적치료 (특히 TKIs 치료)에 대한 반응과 이러한 새로운 유전자 변이와의 관련성에 대한 보고는 아직 없으며, 특히 국내에서는 PBRM1이나 BAP1 등의 유전자 변이가 한국인의 신세포암에서 어느 정도 관찰되는지에 대한 보고조차 없음. 특히 BAP1 유전자의 경우 신세포암에서 나쁜 예후를 보이는 것으로 알려진 mTOR pathway와 관련이 있을 가능성 (Kapur P et al, Lancet Oncology 2013)이 제시되어 전이성 신세포암에 대한 대표적인 또 하나의 표적치료제인 mTOR inhibitor (Temozolimumus, Everolimus)의 치료 반응과 관계있을 가능성이 있으나 이에 대한 연구도 아직 없음. 즉 VHL gene 뿐만 아니라 chromatin-histone regulator gene의 변이가 VHL gene의 변이만으로 설명되지 않던 투명세포형 신세포암의 병인에 중요한 역할을 하며, 예후와도 관계가 있음이 보고되고 있어, 이러한 Chromatin-histone regulator gene의 발현과 TKIs 치료 반응 또는 mTOR inhibitor 치료반응과의 관련성에 대한 연구가 필요한 상황임. 본 연구에서는 BAP1, PBRM1의 한국인에서의 유전자 변이 정도뿐만 아니라 이들의 예후인자로서의 가치에 대해 mTOR pathway 관련인자 (PTEN, pS6 등)와 기존의 연구에서 예후인자로 알려져 있으며 (Thompson RH et al, Proc Natl Acad Sci USA 2004; Thompson RH et al, Cancer Research 2006), 최근 COMPARZ trial (전이 신세포암에 대한 Sunitinib vs Pazopanib 3상 임상 연구)에서 대표적인 TKIs인 Sunitinib과 Pazopanib 치료 효과(overall survival)와 관계있음이 알려진 PD-L1 (Choueiri TK et al, Clin Cancer Res 2015)의 발현을 함께 관찰하여 상호간의 연관성을 도출할 예정임.

○ 진행된 신세포암의 치료는 비뇨기계 종양에 대한 치료중에서, 최근 가장 빠르게 변화하고 있는 분야로서, 다양한 표적치료제의 개발이 활발하게 이루어지고 있는 분야임. 진행된 신세포암은 항암화학요법이나 방사선 치료 또는 호르몬 치료와 같은 통상적인 항암 치료에 거의 반응하지 않는 대표적인 암으로, 몇 년 전까지만 해도 Interferon- α (IFN- α) 나 Interleukin-2 (IL-2) 같은 Cytokine을 이용한 면역치료가 거의 유일한 치료 방법이었음. 그러나 이러한 면역치료는 낮은 반응률과 짧은 생존기간과 함께, 비교적 좋은 예후를 가진, 일부 환자에게만 도움이 되어 그 치료 효과가 제한적이었음. 최근 신세포암에 대한 분자생물학적 기전에 대한 이해를 바탕으로, 신세포암의 대부분을 차지하는 투명세포형 신세포암의 발생 및 진행에 VHL 및 HIF pathway가 결정적인 역할을 하는 것이 알려지면서, 이와 관련된 VEGF(R) 와 mTOR를 표적으로 하는 소위 “표적치료제” 들이 개발되어 전이 신세포암 치료에 새로운 시대를 열었음. VHL 유전자의 비활성화와 관련된 VHL 단백질의 기능 부전 \rightarrow Hypoxia inducible factor(HIF)- α 의 축적 \rightarrow Vascular endothelial growth factor (VEGF), Platelet-derived growth factor (PDGF), Transforming growth factor (TGF)- α 의 발현 증가 \rightarrow 세포 증식, 신생혈관 형성, Apoptosis의 감소로 이루어지는 일련의 과정이 투명세포형 신세포암의 발생 및 성장에 결정적 역할을 한다는 이론적 배경을 바탕으로 신세포암의 발생, 성장 및 진행의 일련의 과정을 억제하기 위한 표적치료제가 개발되기 시작했으며, 특히 신생혈관생성에 결정적 역할을 한다고 알려진 VEGF의 작용을 억제하는 새로운 약제 (소위 말하는 antiangiogenesis를 주 작용기전으로 하는 표적치료제)가 개발되어 임상에 도입되었음. 이러한 표적치료제들은 VEGF-A에 대한 단클론항체인

Bevacizumab(+Interferon)을 시작으로, multikinase inhibitor (Tyrosine kinase inhibitors-TKIs)인 Sorafenib, Sunitinib, Axitinib, Pazopanib 등이, mTOR inhibitor인 Temsirolimus, Everolimus 등이 개발되어 대단위 3상 임상연구 결과를 기초로 전이 신세포암 환자의 치료에 있어 일차 혹은 이차 표준 치료로 자리매김하였음. 그러나 전이 신세포암치료를 새로운 시대를 열었다고 평가되는 이러한 표적치료제도 20-30%환자는 처음부터 반응하지 않으며, 초기에 반응하던 대부분의 환자에서 6-12개월 내에 치료에 저항하게 되어 전체 생존기간이 24-30개월 남짓으로 완전 관해가 되는 경우는 거의 없음. 특히 전이 투명세포형 신세포암 환자에서 Sunitinib, Sorafenib, Pazopanib등의 TKIs제제들이 일차 치료제로 치료의 근간을 이루고 있지만, 현재까지 치료시작 전에 이러한 TKIs제제에 대한 치료 반응을 예측 할 수 있는 확립된 분자생물학적 표지자는 전무함. 현재까지 가장 신뢰할 수 있는 예후예측인자 (생존기간에 대한)는 MSKCC criteria, Heng Criteria - 고칼슘 혈증, 백혈구 증가, 혈소판 증가, 빈혈, LDH증가, Performance status, Nephrectomy후 치료시작까지의 기간 - 등의 임상적 인자가 유일함. 최근 일부에서 예후인자에 대한 몇몇 연구 결과가 보고되고 있지만 연구자마다 상이한 결과를 보고하여, 현재 임상적으로 적용할 수 있는 확립된 분자생물학적 표지자는 없는 실정임. 또한 이러한 TKIs 표적치료제들에 대해 처음부터 반응하지 않는 intrinsic resistance에 대한 기전이나, 대부분의 환자에서 수개월내 치료에 반응하지 않는 acquired resistance에 대한 기전은 아직 확립되어 있지 않음. 일부 연구에서 전이 투명세포형 신세포암의 Sunitinib치료시의 치료 반응에 대한 예측 인자로서 Circulating endothelial cell (CEC) (Grunwald V, et al. BMC Cancer 2010), CEC 및 progenitors (CEPs) (Namdarian B, et al. BJU Int 2010) 등의 혈중 혈관 순환 내피세포가 Sunitinib 치료에 대한 반응과 예후 예측에 도움이 된다는 보고가 있으나 추가적인 연구 결과가 있어야 할 것으로 사료됨. 최근 전이 투명세포형 신세포암환자의 종양조직에서 Tissue microarray를 이용한 연구에서 HIF-1 α , CA-9, Ki67, CD31, pVEGFR1, VEGFR1 and -2, pPDGFR α , β 등이 Sunitinib치료의 반응과 관계가 있다는 보고 (Dornbusch J et al, PLOS one 2013)가 있으나 이 또한 추가적인 연구가 있어야 할 것으로 사료됨. 또한 You 등 (You DS et al, World J Urol 2014)은, 투명세포형 전이 신세포암환자에서 종양감축 신적출술(Cytoreductive nephrectomy)후 Sunitinib을 치료한 환자에서 절제 신조직에 대한 VEGF, VEGFR-2, PDGF- β , PDGFR- β IHC연구에서 strong VEGFR-2 expression이 best reduction of tumor response과 관계있다고 보고한바 있음. 그러나 intratumoral heterogeneity에 대한 연구 결과가 발표되면서 원발 조직이나, 일부 병소에 대한 분자 생물학적 인자의 예후적 가치에 대한 우려가 있는 것도 사실임. 그러나 신세포암에서 유용한 생물학적 표지자가 없는 현재의 상황에서, 임상에서 실제적으로, 용이하게 사용할 수 있는 molecular biomarker가 TMA/IHC를 이용한 tissue-based biomarker인 점 또한 인정할 수밖에 없는 사실임. 본 연구에서는 intratumoral heterogeneity의 한계를 조금이라도 극복하기위해, 가능하면 종양의 여러 부위의 검체조직을 이용하거나, 생검시 가능하면 여러 부위의 조직을 얻기 위해 최선의 노력을 기울일 예정임. 전이 신세포암의 표준 치료인 TKIs 제제는 치료에 대한 저항뿐만 아니라, 치료에 따른 부작용도 만만치 않아 치료 저항군을 예측하거나 치료 양호군을 치료 전에 예측할 수 있는 분자생물학적 표지자의 개발이 절실하여, 본 연구자 또한 본 기관에서 전이 신세포암으로 표적 치료를 시행한 환자를 대상으로 TKIs치료와 관련된 치료반응 예후인자로서 치료전 CT에서의 contrast enhancement 정도 (Han KS et al, Cancer 2010) 와 Sunitinib치료시의 생존기간과 관련된 임상적 예후 인자로 baseline hypertension, nephrectomy, CRP 등 (Kwon W et al, Annal of Surgical Oncology, 2013)을 보고한 바 있음. 이러한 지속적인 임상연구와 함께, 임상에서 치료전 환자 선택에 적용할 수 있는 유용한 분자생물학적 표지자의 도출 및 검증이 절실한 실정임.

○ 전이 신세포암에 대한 TKIs제제 등의 Antiangiogenesis치료의 저항기전에 대한 연구는 최근 다량의 연구 결과가 보고되고 있는 데, 특히 신세포암에 대한 Sunitinib치료 저항에 대한 연구결과

Huang등이 (Huang D, et al. Cancer Research, 2010) IL-8이 신세포암에서 Sunitinib에 대한 저항과 관련이 있음을 밝힌 이후, myeloid derived suppresser cells (MDSCs) (Finke J, et al. Int Immunopharmacol 2011), HGF/c-Met pathway (Shojaei F, et al. Cancer Research 2010), epithelial-mesenchymal-transition (EMT) (Hammers HJ, et al. Mol Cancer Ther 2010) 등이 신세포암의 Sunitinib 저항에 관련이 있을 것이라는 in vitro 및 Xenograft 실험 결과가 발표되었음. 최근 Autotaxin-lysophosphatidic acid signaling axis (Su S et al. Clinical Cancer Research 2013), EMMPRIN (Sato M et al, PLOS one 2013), peripheral blood microRNA expression profile (Gómez-Pozo A et al, Neoplasia 2012), microRNA-141 downregulation (Berkers J et al J Urology 2012), AKT/mTOR pathway (Makhov PB et al, Mol Cancer Ther 2012), EMT(Hammers HJ et al Mol Cancer Ther 2010), FGF2 (Welti JC et al, Oncogene 2011), HGF/c-Met (Shojaei F et al, Cancer Research 2010), PRKX, TTBK2, RSK4 (Bender C and Ullrich A, Int J Cancer 2012), Lysosomal sequestration (Gotink KJ et al, Clin Cancer Research 2011), IL-6 (Porta C et al, Oncology 2013), c-Kit activation (DiNitto JP et al, J Biochemistry 2010) 등 여러 mechanism이 전이 신세포암의 TKIs 치료 (특히 표준 치료로 알려진 Sunitinib)에 대한 저항 기전으로 대두되고 있음. 실제로 VEGF외의 다른 proangiogenic growth factors나 recruitment of bone marrow derived cells, increased pericyte coverage, angiogenesis independent growth patterns 등과 함께 Hypoxia조장에 의한 침윤-전이 (invasion-metastasis) 및 EMT (Epithelial-mesenchymal transition)도 Sunitinib등의 치료 저항의 한 기전으로 추정되고 있으나, 아직까지 정확한 기전은 알려져 있지 않음. 현재까지의 여러 보고를 종합해 보면 어느 한 가지 기전보다는 여러 기전이 복합적으로 작용할 가능성이 크며, 특히 침윤-전이, EMT의 기전은 새로운 전이의 발생이라는 암 진행의 측면과 함께 현재 표준치료제로 간주되고 있는 TKIs제제의 치료 한계의 극복 (완치율 상승 및 생존기간 연장), 치료 저항시의 추가 치료 대책 마련, combination치료의 한계극복 등의 목적을 위해서도 지속적인 추가 연구가 필수적임.

○ Transglutaminase, 특히 그중에서 Transglutaminase-2 (Tissue glutaminase, protein-glutaminase, γ -glutamyltransferase, TGase-2, TGM, TG-2)는 염증 반응 및 암의 진행 (전이 및 침윤, 치료 저항)에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있음. TGase-2의 증가는 췌장암, 유방암, 악성 흑색종, 난소암, 폐암, glioblastoma에서 발견되며, 최근에는 TGase-2의 발현 증가가 disease progression, drug resistance, metastasis, EMT또는 autophagy에 대한 조절, poor patient prognosis에 관련이 있는 것으로 보고되고 있음 (Wang Z and Griffin Amino Acid 2012; Budillon A et al, Amino Acid 2013; Beninati S et al, Amino Acid 2013; Kumar S and Mehta K Amino Acid 2013; Choi CM et al, Molecular Cancer 2011; Jeong JH et al JKMS 2013; Oh K et al, Breast Cancer Research 2011). 각종 암에서의 EMT, invasion, metastasis와 관련된 TGase-2의 역할은 TGase-2의 증가가 EMT를 조장하고, 암세포가 stem cell like property를 가지게 하여 침윤 및 전이를 일으키는 것으로 설명할 수 있으며, 이때 inflammatory signal인 TGF- β , TNF- α , and NF- κ B의 조절, matrix metalloproteinase (MMP2, MMP3, and MMP9)의 증가가 관여 한다고 함 (Kumar S and Mehta K Amino Acid 2013). TGase-2와 TKIs제제의 target인 VEGFR, PDGFR와 IGF1R, EGFR 등의 receptor tyrosine kinases (RTK)와의 관계에 대해서는 아직 많은 부분이 알려져 있지 않지만, TGase-2의 transmembrane location과 관련된 integrin: RTK: transglutaminase complexes의 형성으로 RTKs의 signalling process에 integrin-bound TGase-2가 관여할 것으로 추정되고 있으며 (Sivaramakrishnan M et al, Amino Acid 2013), 향후 많은 연구가 있어야 할 부분임. 최근 EGFR-TKI치료를 받았던 non-small cell lung ca 환자에서 TGase-2 expression이 progression free survival과 관계가 있다는 보고가 있어 (Jeong JH et al, JKMS 2013), 표적 치료제 (RTK를 표적으로 하는)의 치료반응을 예측할 수 있는 예후 예측인자로서의 가치가 기대됨. TGase 2-와 신세포암과의 관계는 많은 연구가 이루어져 있지 않지만, Hideka H

등 (Hideka H et al, Oncotarget 2012)은 microRNA miR-1285의 RCC cell line 및 조직에서의 감소 및 이에 따른 TGase-2의 upregulation이 신세포암의 진행과 관계가 있다고 보고하였음. 또한 70례의 종양조직과 10례의 정상조직에 대한 TMA에서 정상조직에서는 TGase-2가 발현되지 않고 종양조직에서 강하게 발현되면서, T1 병기 15례에 비해 T2병기이상 55례에서 높게 발현됨을 보고하였음. 그러나 Erdem 등 (Erdem M et al, Urologic Oncology 2013)은 이와 상반되게 95개 primary tumor tissue와 정상조직에서 TGase-2, ITGB1, SDC4의 mRNA를 측정하고, 60명의 환자에서 TGase-2의 활성도를 측정하여 TGase-2 발현이 70.5%의 종양조직에서 2.9배 감소되어 있고, 나머지 29.5%에서는 1.95배 증가되어 있음을 보고하였음. 이 연구에서 TGase-2 발현이 증가된 조직중 82.6%에서 ITGB1 과 SDC4의 증가가 있었으며, TGase-2, ITGB1, SCD4 증가가 동시에 있었던 경우가 전이와 종양 괴사와 관계가 있다고 보고하였음. 국내연구로는 최근 Park 등(Park MJ et al, J Pathol Trans Med 2015)이 638명의 투명세포형 신세포암 환자조직에서 Strong TGase-2 (3+) 발현이 high nuclear grade와 poor prognosis와 관계가 있음을 보고하였음. 본 기관의 김 수열박사팀의 연구에서는 TGase-2가 신세포암 세포주에서 일률적으로 증가되어 있고, p53의 DNA binding domain의 cross-linking을 유발함으로써 autophagy를 통한 p53의 depletion을 유발하여 신세포암 세포의 survival을 촉진한다고 보고하였음. 또한 TGase-2 억제제가 신세포암 세포주의 p53 mediated apoptosis를 조장시키는, TGase-2 inhibition의 신세포암에 대한 억제효과를 실험적으로 증명하였으며, 실제로 TGase-2 inhibitor인 GK13, GK 921의 신장암 세포주 및 Xenograft model에서 anticancer effect를 증명하여 신세포암의 새로운 치료제로서 TGase-2 inhibitor의 가능성을 제시하였음 (Ku BM et al, J Cancer Res Clin Oncol 2014; Ku BM et al, Amino Acids 2014; Lee SH et al, J Cancer Res Clin Oncol 2013; Ku BM et al, FASEB J 2013; Kim DS et al, Oncogene 2011). 본 연구에서는 투명세포형 신세포암에서 과발현 되어있는 TGase-2의 전이 신세포암에서의 임상적 의의를 도출하기 위해 전이성 신세포암환자의 신장 조직/전이 조직에 대한 TMA/IHC를 시행하여 예후인자로서의 가치, TKIs치료전 치료 반응 예측 또는 치료 저항인자로서 TGase-2의 발현의 관련성에 대한 연구를 시행할 계획임. 이를 통해 VEGF 표적치료제의 약제 내성 및 치료 내성 기전으로써의 TGase-2의 가능성을 도출하고, 전이 신세포암에 대한 TGase-2 inhibitor의 임상적 사용에 대한 이론적, 임상적 배경을 뒷받침할 계획임.

○ 최근까지 전이 신세포암의 표준 치료로 간주되었던 면역치료는 원발 병소인 신장 자체 종양에는 거의 반응하지 않아, 다른 암에서 활발히 시행되었던 신보조치료 (neoadjuvant therapy)가 신세포암에서는 적용되지 않았음. 그러나 여러 후향적 연구에서 TKIs제제가 신장의 원발 병소(Primary tumor) 자체에도 반응한다는 것이 알려짐으로써, 표적치료제를 이용한 신보조치료가 시도되고 있고, 특히 Sunitinib이 임상에서 가장 많이 시도되고 있는 약제임. 이러한 신보조치료는 원발 병소의 크기를 줄여 수술에 따른 합병증 및 후유증을 줄일 수 있으며, 신보존 수술 (nephron sparing surgery)을 가능할 수 있게 하고, 특히 unresectable disease를 resectable하게 할 수 있다는 등의 여러 장점이 있어 매우 매력적인 치료 방법임. 그러나 신보조치료 중에 일부 환자는 진행 할 수 있고, 또한 수술 상처의 지연치유와 함께 수술시 출혈, 유착 등으로 인한 수술합병증의 증가, 그리고 약제 치료에 따른 합병증 발생으로 환자 상태의 악화가가능성 등의 가능성도 있음. 더구나 TKIs제제의 신장 원발 병소에 대한 반응은 전이 병소보다는 미미한 것으로 알려져 있으며 (전이병소에 대한 반응률 (overall response rate)이 30%전후인 것에 비해 신장 원발병소는 5%내외), 실제로 평균 10%이하의 원발 신장 병변의 감소 (Abel J et al, Eur Urol 2011; Cowey CL et al, J Clin Oncol 2010; Hellenthal NJ et al, J Urol 2010; Jonasch E et al, J Clin Oncol 2009)를 보여, 신보조치료에 적절한 대상군 및 좋은 반응을 보일 환자군을 찾는 노력이 시급함. 그러나 현재까지 이러한 신보조치료의 치료 반응을 예측할 수 있는 예후인자는 없으며, 작은 종양이 좀 더 좋은 반응을 보인다는 보고 (Kroon BK et al, Urol 2013)만 있음. 물론 치료후 조기에 CT에서의 조영 증강 감소 (Vasudev NS et al, Brit J Cancer 2013)나 FDG-PET의 uptake 감소 (Khandani AH et al, Nuc Med Comm 2012), DCE-MRI에서의 혈류 감소

를 보이는 경우 (Bharwani N et al, Brit J Cancer 2014)가 원발 신장병변의 감소와 관련이 있다는 보고가 있으나, 이는 모두 치료시작 후에야 반응을 예측할 수 있는 소견임. 비록 원발 병소는 아니지만, 전이 신세포암에 대한 표적치료 시작전 전체 반응을 예측할 수 있는 인자로 microvessel area (Aziz SA et al, Cancer Cell Int 2014) 대한 보고가 있으며 본 연구자도 치료전 CT에서의 contrast enhancement 정도 (Han KS et al, Cancer 2010)가 전이 병소의 치료 반응 및 Progression free survival(PFS)와 관련이 있고, 원발 종양의 크기와 체표면적이 원발 종양의 치료반응과 관련이 있음 (Kim SH et al, Kor J Urol Oncol 2014 in press)을 보고한 바 있음. 그러므로 TKIs제제를 이용한 신보조치료에서의 원발 신장병소 (primary tumor)의 반응을 예측할 수 있는 분자 생물학적 인자의 도출은 신보조치료의 목적을 달성할 수 있는 적절한 환자를 선택할 수 있게 하고, 나아가 TKIs치료시의 치료 반응 예측 및 예후인자로서의 가치를 가늠해 볼 수 있는 매우 중요한 연구임. 특히 본 연구에서는 TKIs들의 주 치료 목표인 신생혈관형성(angiogenesis) 과 관련된 인자들 (VEGFR, PDGFR, MVD 및 MVA)에 대한 연구와 함께 임상 소견 (원발 신장 병변의 CT enhancement정도)에 대한 연구를 병행하므로 치료전 Biomarker 또는 predictive factor의 도출이 가능할 것으로 예상됨.

○ 요약하면 본 연구에서는 새로이 보고된 투명세포형 신세포암 관련 유전자들 (BAP1, PBRM1)의 한국인에서의 유전자 변이정도, 예후 및 치료반응과의 관계 등을 도출하여 한국인에서 신세포암의 예후와 관련된 tissue-based molecular biomarker로서의 가치를 도출하고 검증하며, 전이성 신세포암 환자들에서 조직 및 영상학적 소견, 임상적 양상을 종합하여 TKIs 치료 반응을 예측할 수 있고, 신보조치료시 적절한 환자를 선택할 수 있는 후보 분자 생물학적 및 임상적 biomarker를 도출하고자 함. 최종적으로는 이를 기초로 추가적인 연구를 통해, 치료시작전 전이성 신세포암에 대한 TKIs 치료반응을 예측할 수 있는 적절한 biomarker의 도출로 예후 예측 및 적절한 치료군, 특히 신보조치료 (neoadjuvant) 대상군을 선별할 수 있기를 기대함. 또한 부가적으로 전이성 신세포암환자에서 트랜스글루타미나제-2 (TGase-2)발현의 임상적 의의를 고찰함으로써 전이성 신장암 치료제로서의 TGase-2 inhibitor의 가능성에 대한 임상적인 이론적 기반을 제공하고자 함.

1-3. 연구개발 범위

○ 기존 확보된 국소/전이 신세포암조직에서 BAP1, PBRM1 유전자변이 (BAP1, PBRM1) 및 mTOR pathway 관련인자 (pS6, PTEN)에 대한 TMA/IHC 시행 및 임상 data 분석 (국소 신세포암 조직 400여례 및 전이성 신세포암조직 30-50여례 예정- 전이성 신세포암환자의 조직에 대해서는 추가적으로 TGase-2, PD-L1 및 혈관 형성 관련인자(pVHL, HIF-1 α , -2 α , VEGFR 1,2,3, PDGFR- α , - β , CA-9), vascularity (MVD, MVA) 측정 관련인자 (CD31, CD34, CD105, α -SMA 등)들에 대한 TMA/IHC 시행)

○ 기존 확보 및 추가 확보 TKIs 치료 전이성 신세포암 환자의 신장 조직(수술 및 생검, 3-40여례 예정) 및 전이 병소조직(수술 및 생검, 10여례 예정)에서 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련인자, TGase-2, PD-L1, 혈관형성 관련인자, vascularity 측정 관련인자에 대한 예비 TMA/IHC 시행 및 예비분석

○ 전이성 신세포암으로 TKIs치료 중 및 치료예정인 환자의 신장(수술 혹은 생검) 조직 및 전이 병소(수술 및 생검) 조직 확보(5-10여례 예상)

○ TKIs치료중 신장 및 전이병변에 대한 Serial한 CT 검사에서 치료 반응, 조영 증강 (contrast-enhancement(HU)변화, 괴사정도 등의 영상학적 소견에 대한 분석

○ 환자의 임상 정보 획득 및 분석을 위해 임상 DB구축 및 환자의 임상병리학적 특성, 치료에 따른 임상 양상, 예후 확인

2. 국내외 기술개발 현황

- 현재 전이신장암의 예후를 예측할 수 있는 prognostic biomarker, 치료에 대한 반응을 예측할 수 있는 biomarker(predictive biomarker)에 대한 연구는 전세계적으로 활발히 시행되고 있으나, 아직 전향적인 연구를 통해 검증된(Validated) biomarker가 없고 현재까지도 임상에 적용되는 molecular biomarker는 없는 상태임 (Randall JM et al, Cancer Metastasis Review 2014; Li H et al, Urology Oncology 2015; Vano Y-A et al, Expert Review of Anticancer Therapy 2014)
- 특히 현재 전이 신장암의 표준치료인 표적치료제에도 20%--30%의 환자는 처음부터 치료에 저항하는 intrinsic resistance를 보이거나 이를 예측할 수 있는 biomarker가 없고, 특히 장기간의 치료 효과를 보이는 환자들에 대한 연구에서도 임상적으로 적용할 수 있는 biomarker가 없음. 몇몇 SNPs에 대한 연구에서 치료나 부작용과 관계된 biomarker가 제시되었으나, 약제마다 다르고, ethnic difference 등의 가능성으로 인해 현재 임상에 크게 도움이 되지 못하고 있는 실정임 (Garcia-Donas J et al Urology Oncology 2015; Marto P & Rini B, Clinical Cancer Research 2014)
- 최근 전이 신장암환자에 대한 표적치료제사용에 대한 Tissue biomarker에 대한 다양한 연구결과가 발표되고 있는 데 신장암세포에서 PD-L1 발현의 예후 인자로서의 가치에 대한 연구 뿐만 아니라 (Choueiri TK et al, Annals of Oncology 2014), 전이 신장암에 대한 표적 치료시에 조직내 PD-L1 expression이 나쁜 예후를 보인다는 보고 (Choueiri TK et al, Clinical Cancer research 2015; Shin S-J et al, the Oncologist 2015)들이 나오고 있음 (Iacovelli R et al, Target Oncology 2015). BAP-1, PBRM-1 expression과 신장암의 예후와 관련이 있다는 보고는 현재도 지속적으로 발표되고 있으며 특히 국내에서도 서울대학교 병리학교실에서 신장암에서 PBRM-1 expression의 임상적 의의를 보고 한바 있음 (Kim J-Y et al, J Urology 2015; Nam SJ et al, Urologic Oncology 2015). 이러한 추세를 반영하여 최근 Piva F 등은 투명세포형 신세포암에서 BAP1, PBRM1, SETD2 의 진단 및 예후적 가치, 그리고 향후 personalized treatment의 표적으로서의 가능성에 대해 기술한바 있음 (Piva F et al, Expert Reviews of Molecular diagnosis 2015)
- 전이 신장암환자의 표적치료제사용에 대한 Tissue biomarker에 대한 연구결과는 최근 mTOR pathway, VEGF - HIF - CA-IX, TG2에 대한 몇몇 연구 결과 (Travnicek I et al, Anticancer Research 2015; Mortzer RJ et al, Cancer Chemotherapy Pharmacology 2014; You D et al, World J Urology 2015; Erdem S et al, World J Urology 2015; u)가 발표되었으나 Validation의 문제와 Prospective Trial에의 미적용이라는 문제가 남아 있어 지속적인 연구가 필요할 것으로 사료됨.
- 국내에서도 최근 PBRM 1(Kim J-Y et al, J Urology 2015; Nam SJ et al, Urologic Oncology 2015), TG2 (Park MJ et al, J Pathology and Translational Medicine 2015), PD-L1 (Shin S-J et al, the Oncologist 2015) 등의 국소 또는 전이 투명세포형 신세포암에서의 예후인자로서의 가치에 대한 발표가 있었음. 그러나 아직 전이 신장암에 대한 표적치료(TKIs 또는 mTOR)치료시에 PBRM-1이나 TG2의 예후 인자로서의 가치에 대한 연구결과는 발표된 적이 없으며 이들 Candidate tissue biomarker에 대한 통합적 연구 결과도 발표된 적이 없음

3. 연구수행 내용 및 결과

3-1 연구수행 내용

○ 국소/전이성 신세포암 조직에서 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련 인자들에 대한 연구

- Tissue microarray (TMA) 제작 및 Immunohistochemical staining (IHC) 연구 (후, 전향적 연구)

대상 환자는 신세포암/신종양 (양성 신종양 포함)으로 수술(근치적 신적출술, 부분 신절제술, 종양 감축 신절제술, 전이 병소 절제술등)을 시행한 환자로 국소 신세포암의 경우는 2년이상 (가능하면 5년이상) 추적 관찰이 시행된 환자들 중 각 병기 별로 T1 200-250여례, T2 50-100여례, T3 20-50여례, T5-20례의 신세포암 및 정상 신장 조직을 대상으로 하여, 총 400여례 (예상)으로 후향적 연구를 시행함. 전이 신세포암환자의 경우는 전체 환자를 대상으로 하며, 신적출술/부분 신절제술, 전이 병소절제술 또는 조직생검 등으로 검체 조직이 확보된 또는 확보 가능한 환자를 대상으로 후향적 및 전향적 연구를 시행함. 신장조직(수술조직 및 생검조직) 및 전이 병소 조직 (수술 조직 및 생검조직)에 대해 신장조직 20-40여례, 전이 병소 10-30여례, 총 30-50여례를 대상으로 함.

대상 환자들의 병리 조직 슬라이드를 재검토하여 대상 파라핀 블록을 선택함. 선택된 파라핀 블록을 이용하여 tissue microarray를 제작 추후 면역 조직화학염색실험에 사용함.

BAP1 및 PBRM1 유전자 변이 및 mTOR pathway 관련인자 (BAP1, PBRM1, pS6, PTEN)에 대한 면역 조직 화학 염색은 선정된 국소 / 전이 신세포암 환자 조직에 대해, 포르말린 고정, 파라핀 절편에 염색이 가능한 항체들을 선택하여 통상적인 방법을 따라서 면역 조직화학염색을 시행하고, 각각의 positive criteria에 따라 병리학 전문의에 의해 판정함.

전이성 신세포암환자의 조직에 대해서는 추가적으로 tissue-based molecular biomarker candidate 인 TGase-2, PD-L1 및 혈관 형성-angiogenesis(VHL-HIF-VEGF pathway) 관련인자 (pVHL, HIF-1 α , -2 α , VEGFR 1,2,3, PDGFR- α , - β , CA-9), vascularity (MVD, MVA) 측정 관련인자 (CD31, CD34, CD105, α -SMA 등)들에 대해 상기의 TMA/IHC 방법으로 추가적인 연구를 시행함.

○ 전이성 신세포암에 대한 TKIs치료시 치료 반응 및 치료 저항을 예측할 수 있는 molecular biomarker로써 BAP1, PBRM1 유전자변이, 혈관 형성(angiogenesis) 관련 인자, vascularity 관련인자, TGase-2, PD-L1 등의 임상적 가치에 대한 Pilot 연구

- 전이성 신세포암 조직 (신장조직-수술 및 생검조직, 전이 병소 조직- 수술 및 생검조직)에 대한 TMA 제작 및 IHC 연구 (후, 전향적 연구)

대상 환자는 조직학적으로 전이 투명세포형 신세포암으로 확진된 환자 중, 이전에 VEGF를 표적으로 하는 표적치료제를 투여 받은 적 없이, 처음으로 TKIs제제 (Sunitinib, Pazopanib, Axitinib 등)를 투여한 또는 하는 환자 중 본 연구의 취지 및 목적을 이해하고 동참하기로 동의서에 서명한 환자를 대상으로 함

각각의 TKIs 약제의 투여 및 용량, 용법 조절은 통상적 권고 방법에 준하여 시행하고, 환자의 치료에 대한 반응 평가는 통상적인 진료와 동일하게 RECIST Criteria 1.1을 기준으로 매 12주마다 시행함.

전이성 신세포암환자의 조직에 대한 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련인자 (BAP1, PBRM1, pS6, PTEN), TGase-2, PD-L1 및 혈관 형성 관련인자 (pVHL, HIF-1 α , -2 α , VEGFR 1,2,3, PDGFR- α , - β , CA-9), vascularity (MVD, MVA) 측정 관련인자 (CD31, CD34, CD105, α -SMA 등)들에 대한 조직내 발현 양상 확인은 확보 가능 조직에 대한 상기의 TMA/IHC 방법 (조직내 발현 연구 결과)을 이용함.

microvascular density (MVD) 및 microvessel area (MVA)는 통상적인 criteria에 따라 MVD는 number of small vessels per tumor area로, MVA는 the total lumen area of small vessels로 정의함. differentiated microvessels (CD34+)보다 나쁜 예후와 관련이 있는 것으로 알려진 Undifferentiated microvessels (CD31+/CD34-)를 구분하고, TKIs제제의 주 Target으로 알려진 immature vessels (CD34+/ α -SMA-)도 mature vessels (CD34+/ α -SMA+)과 구별하여 판독.

치료중 신장 병변 및 전이병변에 대한 Serial한 CT 검사를 영상의학과 전문의가 재분석하여 치료 반응, Contrast-enhancement(HU) 변화, 괴사조직증가 등에 대한 분석을 시행함.

상기의 소견과 획득된 환자의 임상 정보를 분석하기위해 임상 DB를 구축하고 환자의 임상병리학적 특성, 치료에 따른 임상 양상, 예후를 확인함.

○ 환자의 임상 정보 획득 및 분석

임상 DB를 구축하여 환자의 임상병리학적 특성, 재발 전이, 치료 경과, 병 진행, 생존 등의 예후와 검사소견을 분석함.

○ 통계적 분석을 통한 최종 결과 분석 및 향후 추가적인 연구를 위한 예비 자료 획득

한국인 신세포암 환자에서 BAP1, PBRM1 유전자변이 정도 및 그 임상적 의의를 확인하기위해 환자 들의 임상병리학적 특성, 재발 전이 등의 예후와 그 관련 인자로 예상되는 mTOR Pathway 관련 인자 (S6, PTEN 등)의 발현 연관성에 대한 통계적 분석을 시행함.

TKIs치료시 치료 반응을 예측할 수 있는 tissue-based biomarker로써 BAP1, PBRM1 유전자변이 관련 인자, TGase-2, PD-L1, angiogenesis 및 vascularity 관련인자들 대한 연구에서는 환자들의 임상병리학적 특성, 치료 경과, 치료 반응, 방사선학적 소견등과 각 검사의 연관성을 통계적으로 분석하여 향후 추가적인 연구를 위한 candidate tissue-based biomarker를 도출함.

환자 각각의 임상적(수술방법, 기존의 예후인자 등), 임상 병리학적 변수(병기, 분화도 등), 임상 양상에 따른 변수(재발, 전이, 진행, disease free survival, progression free survival, overall survival 등), 그리고 원발 신장 병소 및 전이 병소의 TKIs 치료에 대한 반응 정도와 각각의 연구 결과와의 연관성을 Chi-square test (or Fisher's exact test)를 이용하여 분석함. 각 주기별로 측정되는 연속변수로서 각각의 검사 수치를 측정하여 평균비교를 하기 위해 paired t-test or ANOVA를 이용하여 분석함. 통계분석은 최신 STATA 프로그램을 이용, $P < 0.05$ 경우를 통계학적 의미 있는 것으로 정의함.

○ 연구수행 추진체계

신세포암에서 BAP1/PBRM1 유전자
변이 및 혈관형성 관련인자
발현의 임상적 의의에 관한 연구
비뇨생식기암연구과/정 진수

TMA/IHC	조직생검 및 방사선학적 소견 검토	총괄연구
혈액암 연구과 /전립선암센터 박 원서	영상의학과 /전립선암센터 김 선호	비뇨생식기암연구과 /전립선암센터 비뇨기과 정 진수
- TMA제작 - 환자의 병리학적 소견 재검토 - 절제 조직 및 생검조직에 대한 면역 조직 화학적 염색(IHC) 시행 및 분석 - MVD 및 MVA 측정	- 전이 신세포암 환자의 신 생검 및 전이 병소 생검 - TKIs 치료중 방사선학적 소견의 검토 및 방사선학적 소견 분석	- 연구 대상 환자 선정 및 DB구축 - TKIs치료 전이성 신세포암 환자의 치료 시행 - 연구 결과와 임상 DB와의 비교 분석

연구 내용	월 단위 계획										비 고	
	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
연구 대상 환자 선정	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
TMA 및 IHC 시행 준비	○	○	○	○	○							
확보 조직에 대한 TMA 제작 및 IHC 시행 및 분석				○	○	○	○	○	○	○	○	
전이성 신세포암으로 TKIs치료예정 또는 치료중인 환자의 조직 확보	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
각 지표간의 연관성 분석							○	○		○	○	

3-2 연구수행 결과

○ 국소/전이성 신세포암 조직에서 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련 인자들에 대한 연구

- Tissue microarray (TMA) 제작 및 Immunohistochemical staining (IHC) 연구 (후, 전향적 연구)

: 총 643 cases(773 tissue sample - 국소 신장암 434 cases and tissues, 전이 신장암 209 cases and 341 tissue sample)에 대해 BAP1, PBRM-1, PS6, PTEN, TGase-2, PD-L1, Ca9, PSMA, Ki67에 대한 TMA-IHC시행하고 일부 결과 분석하였으며, 현재 최종 결과 분석 중임.

국소신장암 434 cases : ccRCC 377 cases

nonccRCC 57 cases

papillary 29 ,chromophobe 24

etc 4

○ 전이성 신세포암에 대한 TKIs치료시 치료 반응 및 치료 저항을 예측할 수 있는 molecular biomarker로써 BAP1, PBRM1 유전자변이, 혈관 형성(angiogenesis) 관련 인자, vascularity 관련인자, TGase-2, PD-L1 등의 임상적 가치에 대한 Pilot 연구

- 전이성 신세포암 조직 (신장조직-수술 및 생검조직, 전이 병소 조직- 수술 및 생검조직)에 대한 TMA 제작 및 IHC 연구 (후, 전향적 연구)

: 총 257 전이신장암 tissue sample (185cases, 신장 조직 153 tissue samples, 전이병소 104 tissue sample) 에 대해 BAP1, PBRM-1, PS6, PTEN, TGase-2, PD-L1, Ca9, PSMA, Ki67 및 angiogenesis관련 marker인 VHL, HIF-1 α , HIF-2 α , VEGFR 1, VEGFR 2, VEGFR 3, PDGFR α , PDGFR β , 그리고 vascularity 관련인자인 CD31, CD34, SMA에 대해 TMA-IHC시행하고 현재 일부 결과 분석하였으며, 최종 결과 분석 중임.

전이 신장암 185 cases : ccRCC 147

non-cc 38

papillary 10, chromophobe 5

sarcomatoid 6, unclassified 3

etc 14

○ 환자의 임상 정보 획득 및 분석

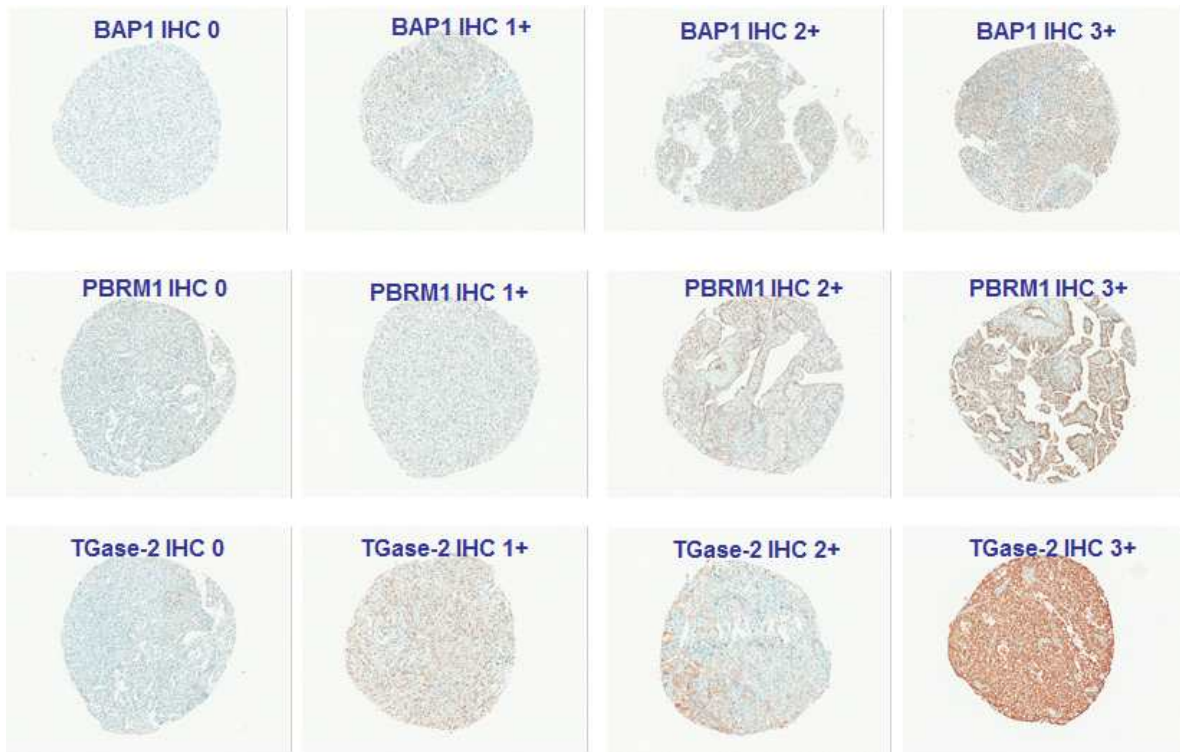
: 총 643명 환자(국소 신장암 434명, 전이 신장암 209명)의 임상 DB를 구성하여 현재 환자의 임상적 정보, 병리학적 정보, 치료반응 및 예후 등을 일부 분석하였으며, 최종 분석중임.

97명의 전신치료 환자군에서 전이신세포암 조직 (총 179 tissue sample, 원발 신장조직 (29) 및 전이조직 (148)에 대한 TMA시행하여 현재 예비 분석하였으며, 현재 최종분석중임. 지속적으로 전이성 신세포암으로 TKIs치료예정 또는 치료중인 환자의 조직 확보 중임

○ 통계적 분석을 통한 최종 결과 분석 및 향후 추가적인 연구를 위한 예비 자료 획득

: 최종 통계분석이 완성되면 논문 및 학회 발표, 추가적인 전향적 연구의 적절한 Tissue-based molecular biomarker의 선정 및 internal & external validation 추진예정

1. TMA-IHC 결과



2. 전신치료 97명 예비분석

- 남/여: 73/24, 평균연령: 56세
- 총 177 tissue samples (Kidney sample 29, metastatic lesion 148 samples)
- first-line Tx: TT 36 (37.1%), IT 61 (62.9%)

Parameter	N or mean	% or SD
Age (years)	56	13-77
Gender (Male/Female)	73/24	75.3/24.7
BMI (kg/m ²)	23.5	15.9-32.5
Underlying disease		
Diabetes	22	22.7
Hypertension	31	32.0
Ischemic heart disease	0	0
Cerebrovascular disease	0	0
ECOG Performance Score		
0	89	97.8
1	2	2.2
Unknown	6	
MSKCC risk		
Favorable	7	13.5
Intermediate	65	73.0
Poor	12	13.5
Unknown	8	
Heng risk		
Favorable	12	13.5
Intermediate	65	73.0
Poor	12	13.5
Unknown	8	
Metastatic site		
Lung	74	76.3
Liver	17	17.5
LN	45	46.4
Bone	33	34
Brain	6	6.2
Other	11	11.3

Parameter	N or mean	% or SD
Clinical T stage		
T1	9	11.4
T2	14	17.7
T3	22	27.8
T4	9	11.4
Tx	25	31.6
Unknown	18	
N0	41	48.8
N1	17	20.2
NX	26	31.0
Synchro / Metachro nous metastasis	59/37	61.5/38.5
Embolization	10	10.3
Nephrectomy	67	69.1
Pathologic T stage	7	10.5
T1	13	19.4
T2	19	28.3
T3	4	6
T4	24	35.8
Tx		
N0	35	52.2
N1	7	10.4
Nx	25	37.3
Fuhrman grade	2	3.3
1	15	25.0
2	32	53.3
3	11	18.3
4	37	
Unknown		

Parameter	N or mean	% or SD
Histology		
Clear cell, pure	67	69.1
Papillary	8	8.2
Chromophobe	2	2.1
Unclassified	1	1.0
Unknown	19	19.6
Sarcomatoid component	6	6.2
Primary Tx drug		
Target therapy	36	37.1
Immunotherapy	61	62.9
DFI <1 yr	65	67.0
1st line RECIST criteria		
PD	29	38.7
SD	19	25.3
PR	19	25.3
CR	8	10.7
F/u loss or death	22	
PFS (mo.)	7.2	1-146.6
Overall survival (mo.)	19.3	2.2-149.6

- . TMA & IHC results; *positive \geq 5%

Marker	Total pt No of Sample	*Positive No of sample
BAP1 (재판독중)	97	10 (10.3%)
PBRM1	97	42 (43.3%)
PS6	97	12 (12.4%)
PTEN	97	66 (68.0%)
TGase2	97	61 (62.9%)
PDL1	97	29 (29.9%)
VHL	97	11 (11.3%)
HIF1 α	97	7 (7.2%)
HIF2 α	97	50 (51.5%)
VEGFR1	52	26 (50%)
VEGFR2	52	37 (38.1%)
VEGFR3	52	9 (9.3%)
PDGFR α	52	52 (100%)
PDGFR β	52	34 (35.1%)
CA9	92	76 (78.4%)
CD31(%)	52	23 (23.7%)
CD34(%)	52	23 (23.7%)
SMA	97	52 (100%)
PSMA	97	3 (3.1%)
Ki67	97	32 (33.0%)

** H-Score 분석중

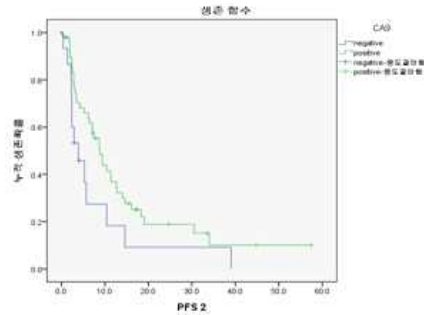
H score

= (% of cell stained at intensity 1x1)
+ (% of cell stained at intensity 2x2)
+ (% of cell stained at intensity 3x3)

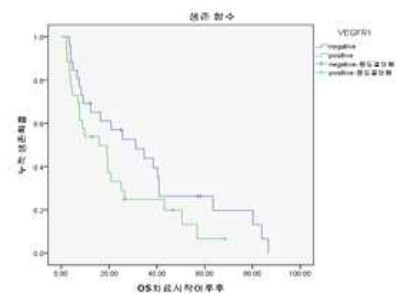
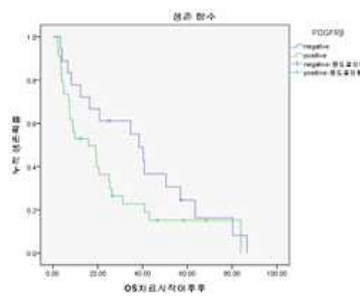
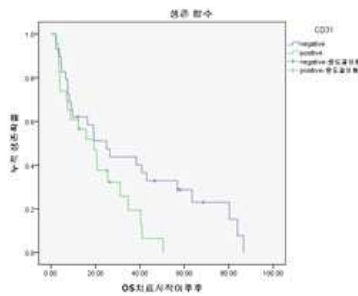
- Univariate analysis

- Univariate analysis

: First-line PFS: CA-9 (p=0.038)
 CA-9 positive: mPFS 8.8mos (6.3 -11.3)
 CA-9 negative: mPFS 3.9mos (0.7 -7.1)



: First-line OS: CD31 (p=0.051), PDGFRβ (p=0.065), VEGFR1 (p=0.106)



3-3 연구개발 성과

- 국소 신장암환자에 대한 대규모 연구를 통해 BAP1, PBRM-1 발현 및 mTOR Pathway 와의 관련성, 예후와의 관련성등을 Validation하고, 특히 TMA를 이용한 IHC연구로 임상에서 쉽게 적용할 수 있는 성과 도출 기대.
- BAP1, PBRM-1 발현 및 mTOR Pathway관련인자(PTEN, PS6)을 최초로 동시에 연구하였음.
- 방대한 양의 조직(773 tissue sample, 20 candidate marker)으로 연구를 시행하여 신장암에서 Tissue-based molecular biomarker에 대한 대규모 연구 결과 도출 및 향후 연구의 Pilot study로서 우수한 연구 결과가 기대됨
- 전이 신장암환자의 원발 신장병소 및 전이 병소를, 동시에 다량의 조직(총 257 tissue sample- 원발 신장병소 154 tissue sample, 전이병소 104 tissue samples)으로 다양한 candidate Tissue-based molecular biomarker에 대한 연구를 시행하여 향후 추가적인 연구의 Pilot연구로서 매우 유용한 가치를 가질 것으로 예상됨.
- 본 연구의 성과 목표가 2016년까지 논문 2편 작성 및 발표이며, 현재 최종분석이 진행 중으로 원래 연구목표(SCI 논문 2편, IF 4)를 상회하는 연구 성과가 기대되며, 현재 관련 논문 1편이 SCI-E (Cancer Research and Treatment, IF 3.318) 에 Accept되었음.

4. 목표달성도 및 관련분야 기여도

4-1. 목표달성도

○ 연구목표 및 평가착안점에 입각한 연구개발목표의 달성도

세부연구목표	가중치(%)	평가의 착안점 및 척도	목표달성도
- 저장된 신세포암 조직 (국소/전이 신세포암)에서 Tissue microarray (TMA)를 이용하여 한국인에서의 BAP1, PBRM1 유전자 변이의 빈도, 예후인자로서의 가치 (임상적 의의)에 대한 연구	40	- 기존 확보된 국소/전이 신세포암 조직에서 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련 인자들에 대한 Tissue microarray (TMA)제작 및 IHC 시행 여부	40%
	10	- BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련 인자들의 예후적 가치(임상적 의의)에 대한 분석 및 학회발표여부	8% (일부 분석 및 최종 분석중)
- 전이성 신세포암에 대한 TKIs치료시 치료 반응을 예측할 수 있는 tissue-based molecular biomarker로써 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련인자, 혈관 형성 (angiogenesis) 관련인자, vascularity 관련인자, TGase-2, PD-L1 등의 임상적 가치에 대한 Pilot 연구	30	- 기존 확보 및 추가 확보 TKIs 치료 전이성 신세포암 환자의 신장 조직(수술 및 생검, 3-40여례 예정) 및 전이 병소조직(수술 및 생검, 10여례 예정)에서 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련인자, 혈관 형성 관련인자, vascularity 측정 관련인자, TGase-2, PD-L1에 대한 TMA 제작 및 예비 IHC 시행 여부	30%
	10	- 전이성 신세포암으로 TKIs치료중인 환자의 추가적인 신장 조직(수술 혹은 생검조직) 및 전이 병소 조직(수술 및 생검조직) 확보(5-10여례) 여부	10%
	10	- 기존 및 추가 확보 전이성 신세포암 조직에 대한 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련인자, 혈관 형성 관련인자, vascularity 측정 관련인자, TGase-2, PD-L1에 대한 연구 결과 예비 분석 여부	8% (일부 분석 및 최종 분석중)
합	100	목표달성도	96%

4-2. 관련분야 기여도

- 국소 신장암환자에 대한 연구를 통해 BAP1, PBRM-1 발현 및 mTOR Pathway 와의 관련성, 예후와의 관계 등을 국내환자를 대상으로 Validation할 수 있을 것으로 기대되며, 특히 TMA를 이용한 IHC연구로 임상에서 쉽게 바로 적용할 수 있는 장점이 있음
- BAP1, PBRM-1 발현 및 mTOR Pathway와의 관련성(PTEN, PS6)을 최초로 동시에 연구하였음.
- TTKIs 등 전신치료를 시행한 전이 신세포암환자의 원발 신장병소 및 전이 병소를, 동시에 다량의 조직(총 185 cases - 257 tissue sample)으로 다양한 candidate tissue-based molecular biomarker에 대한 연구를 시행하여 (특히 BAP1, PBRM1 유전자 변이와의 관계는 최초로 도출 예정) 향후 추가적인 연구의 Pilot연구로서 매우 유용한 가치를 가질 것으로 예상됨

5. 연구결과의 활용계획

○ 연구 결과의 향후 활용 계획

- 신장 조직(신세포암 조직 및 전이 병소 조직)에 대한 TMA 확립으로 향후 신세포암에 대한 지속적인 TMA 연구 가능
- 향후 추가적인 전이 신세포암환자의 조직에 대한 연구를 통해 적절한 tissue-based molecular biomarker로서의 역할을 규명하여 TKIs 치료시의 예후를 예측하고, TKIs치료 및 TKIs를 이용한 신보조치료에 적절한 환자(원발 신병변의 치료 반응이 좋을 환자 선택)를 선택할 수 있는 유용한 biomarker로서의 역할이 기대됨. 특히 VHL-HIF-VEGF, PDGF pathway에 대한 연구와 MVD, MVA, TGase-2에 대한 연구를 통해 신세포암에 대한 TKIs제제의 치료 mechanism 및 치료 저항 mechanism을 추론하는 데 도움이 될 것으로 사료됨. 이러한 예비 연구를 기초로 candidate tissue-based biomarker에 대한 추가적인 연구를 통해, 최종적으로 TKIs치료 전이성 신세포암 환자의 predictive 또는 prognostic tissue-based molecular biomarker 도출 및 TKIs 치료, 특히 neoadjuvant TKIs 치료의 ideal candidate의 도출이 가능할 것으로 예상되며, 특히 향후 validation을 거쳐 임상적용도 가능할 것으로 사료됨.
- 신장암에서의 BAP1, PBRM-1 발현의 예후인자로서의 가치를 확인하고 validation할 뿐 만아니라 BAP1 발현과 관련이 있을 것으로 추정되는 mTOR pathway(PTEN, PS6)에 대한 연구를 동시에 시행하여 BAP1, PBRM-1 발현의 임상적 의의 및 관련 기전, 임상적 유용성 고찰.
- 전이신장암의 TKIs 치료시에 Tissue-based molecular biomarker에 대한 대규모 연구를 임상에 쉽게 적용할 수 있는 TMA를 통한 연구를 시행하여 향후 Validation으로 거쳐 환자 예후예측, 치료제 선택, Neoadjuvant TKI 치료의 적절한 환자군선택 등에 도움을 줄 것으로 사료됨.
- 상기의 모든 결과를 바탕으로 국소 및 전이성 신세포암 환자의 예후 예측 및 생명 연장에 도움을 주며, TKIs제제의 전체적인 치료 효과의 증대를 가져올 것으로 기대됨.

○ 추가 연구의 필요성, 타 연구와의 응용 가능성

- 의미있는 tissue-based molecular biomarker에 대해 추가적인 전향적 연구와 함께 internal and external validation이 필요 할 것으로 사료됨.
- 신장암환자의 예후를 예측하고 적절한 TKIs치료군을 예측하는 Tissue-based molecular biomarker에 대한 대규모 연구 결과 도출로 향후 추가적인 연구 및 전향적 연구를 통해 매우 활용 가능성이 높은 연구로의 발전이 기대됨.
- 추가적인 연구 (sequencing 등) 및 전향적 연구를 통해 실제 임상에 쉽게 적용할 수 있는 precision medicine 및 새로운 치료 target 으로의 발전에 기여하기를 기대함

6. 연구과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 해당사항 없음

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	Systemic Treatments for Metastatic Renal Cell Carcinoma: 10-Year Experience of Immunotherapy and Targeted Therapy	국립암센터	교신저자	CANCER RESEARCH AND TREATMENT (CRT)(Accepted)	3.318	On line published		SCI-E
2	논문	Prognostic nutritional index is an independent predictor of survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with targeted therapy	국립암센터	교신저자	논문투고중		논문투고중		SCI
3	논문	Efficacy and Safety of Sorafenib Therapy on Metastatic Renal Cell Carcinoma in Korean Patients: Results from a Retrospective Multicenter Study	국립암센터	교신저자	PLOS ONE	3.234	2015.08.26		SCI-E
4	논문	Overexpression of BRCA1 or BRCA2 in prostatectomy specimens is predictive of biochemical recurrence after radical prostatectomy	국립암센터	공동저자	Histopathology	3.453	On line published		SCI
5	논문	The prevalence and outcomes of pT0 disease after neoadjuvant hormonal therapy and radical prostatectomy in high-risk prostate cancer	국립암센터	공동저자	BMC Urology	1.413	2015.08.13		SCI-E
6	논문	Oncologic aspects of long-term followed incidental prostate cancer detected by cystoprostatectomy in Korean patients.	국립암센터	공동저자	Prostate international	-	2015.06.01		기타

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)
7	논문	Overexpression of ERG and wild-type PTEN are associated with favorable clinical prognosis and low biochemical recurrence in prostate cancer	국립암센터	공동저자	PLOS ONE	3.234	2015.04.21		SCI-E
8	논문	Changes in urination according to the sound of running water using a mobile phone application	국립암센터	공동저자	PLOS ONE	3.234	2015.05.15		SCI-E
9	논문	Efficacy and oncologic safety of nerve-sparing radical hysterectomy for cervical cancer: a randomized controlled trial.	국립암센터	공동저자	Journal of gynecologic oncology.	2.494	2015.04.01		SCI-E
10	논문	A case report of partial nephrectomy of mucinous cystadenocarcinoma in kidney and its literature review: Cancer research and treatment.	국립암센터	교신저자	Cancer research and treatment	3.318	On line published		SCI-E
11	발표	Symposium IV Kidney Cancer : A new treatment paradigm in target therapy for mRCC 강의	국립암센터	연자	The 32nd Korea-Japan Urological Congress	강의	2015.09.18		국제 학회 초청강연
12	발표	Current status of renal cell carcinoma in Korea : epidemiology and treatment for advanced RCC 강의	국립암센터	연자	46th Congress of Japanese Society of Renal Cancer and 2nd East Asia Kidney Cancer Symposium	강의	2015.07.19		국제 학회 초청강연

8. 참여연구원 현황

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

9. 기타사항

○ 해당사항없음

10. 참고문헌

1. Baccala A, Sercia L, Li J et al, Expression of Prostate-Specific Membrane Antigen in Tumor-Associated Neovasculature of Renal Neoplasms Urol 2007; 70: 385-90.
2. Bragimovaa I, Maradeoa ME, Dulaimib E et al, Aberrant promoter hypermethylation of PBRM1, BAP1, SETD2, KDM6A and other chromatin-modifying genes is absent or rare in clear cell RCC. Epigenetics 2013;8(5):486-93.
3. Brugarolas J, PBRM1 and BAP1 as Novel Targets for Renal Cell Carcinoma Cancer J. 2013;19(4): 324-32.
4. Dornbusch J, Zacharis A, Meinhardt M et al Analyses of Potential Predictive Markers and SurvivalData for a Response to Sunitinib in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma. PLOS One 2013; 8(9) published on line
5. Erdem S, Yegen G, Telci D et al, The increased transglutaminase 2 expression levels during initial tumorigenesis predict increased risk of metastasis and decreased disease-free and cancer-specific survivals in renal cell carcinoma. World J Urol 2015;33:1553-60.
6. Garcia-Donas J, Rodriguez-Moreno JF, Romero-Laorden N, Rodriguez-Antona C, Renal carcinoma pharmacogenomics and predictors of response: Steps toward treatment individualization Urol Oncol 2015;33:179-186.
7. Haddad AQ, Kapur P, Singla N et al, Validation of Mammalian Target of Rapamycin Biomarker Panel in Patients with Clear Cell Renal Cell Carcinoma. Cancer 2015: 121(1): 43-50.
8. Iacovelli R, Nole F, Verri E et al, Prognostic Role of PD-L1 Expression in Renal Cell Carcinoma. A Systematic Review and Meta-Analysis. Targ Oncol 2015: published on line.
9. Kim J-Y, Lee S-H, Moon KC et al, The Impact of PBRM1 Expression as a Prognostic and Predictive Marker in Metastatic Renal Cell Carcinoma. J Urol 2015; article in press.
10. Li H, Samawi H, Heng DY The use of prognostic factors in metastatic renal cell carcinoma. Urol Oncol 2015: article in press published on line
11. Maroto P and Rini B, Molecular Biomarkers in Advanced Renal Cell Carcinoma. Clin Cancer Res 2014;20(8):2060-71.
12. Motzer RJ, Hutson TE, HudesGR et al ,Investigation of novel circulating proteins, germ line single-nucleotide polymorphisms, and molecular tumor markers as potential efficacy biomarkers of first-line sunitinib therapy for advanced renal cell carcinoma. Cancer Chemother Pharmacol 2014;74 739-50.
13. Nam SJ, Lee C, Park JH et al, Decreased PBRM1 expression predicts unfavorable prognosis in patients with clear cell renal cell carcinoma. Urol Oncol 2015;340: e9-e16

14. Park MJ, Baek HW, Rhee Y-Y et al, Transglutaminase 2 expression and its prognostic significance in clear cell renal cell carcinoma. *J Pathol Trans Med* 2015;49:37-43.
15. Piva F, Santoni M, Matrana MR et al, BAP1, PBRM1 and SETD2 in clear-cell renal cell carcinoma molecular diagnostics and possible targets for personalized therapies. *Expert Rev Mol Diagn* 2015;1-8: early published on line.
16. Randall JM, Millard F, and Kurzrock R. Molecular aberrations, targeted therapy, and renal cell carcinoma current state-of-the-art. *Can metastasis Rev* 2014;33:1109-24.
17. Rowe SP, Gorin MA, Hammers HJ et al, Imaging of metastatic clear cell renal cell carcinoma with PSMA-targeted 18F-DCFPyL PET/CT. *Ann Nucl Med* 2015; published on line.
18. SAM S. CHANG SS, REUTER VE, HESTON WDW et al, Metastatic renal cell carcinoma neovasculature expresses prostate-specific membrane antigen. *Urol* 2001; 57: 801-5.
19. SHIN SJ, JEON YK, CHO Y et al, The Association Between PD-L1 Expression and the Clinical Outcomes to Vascular Endothelial Growth Factor-Targeted Therapy in Patients With Metastatic Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *The Oncologist* 2015;20:1-8.
20. Thompson RH, Dong H, Kwon ED. Implications of b7-h1 expression in clear cell carcinoma of the kidney for prognostication and therapy. *Clin Cancer Res* 2007;13:709s-15s.
21. TRAVNIČEK I, BRANŽOVSKY J, KALUSOVA R et al, Tissue Biomarkers in Predicting Response to Sunitinib Treatment of Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Anticancer Res* 2015;35:5661-6
25. Vano YA, Tartour E, Fournier LS et al, Prognostic factors in patients with advanced renal cell carcinoma treated with VEGF-targeted agents. *Expert Rev Anticancer Ther* 2014;14(5):523-42.
26. You D, Song SH, Cho YM et al, Predictive role of tissue-based molecular markers in patients treated with sunitinib for metastatic renal cell carcinoma. *World J Urol* 2015;33:111-8.
27. Hakimi AA, Chen YB, Wren J, et al. Clinical and pathologic impact of select chromatin-modulating tumor suppressors in clear cell renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2013;63:848-854.
28. Varela I, Tarpey P, Raine K. et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal cell carcinoma. *Nature*, 2011;469:539-542.
29. Hakimi AA, Chen YB, Wren J, et al. Clinical and pathologic impact of select chromatin-modulating tumor suppressors in clear cell renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2013;63:848-854.
30. Varela I, Tarpey P, Raine K. et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal cell carcinoma. *Nature*, 2011;469:539-542.

31. Pawłowski R, Mühl SM, Sulser T, et al. Loss of PBRM1 expression is associated with renal cell carcinoma progression *Int J Cancer*. 2013;132(2):E11-7
32. Kapur P, Peña-Llopis S, Christie A, et al. Effects on survival of BAP1 and PBRM1 mutations in sporadic clear-cell renal-cell carcinoma: a retrospective analysis with independent validation. *Lancet Oncol*. 2013;14(2):159-67
33. Kapur P, Christie A, Raman JD, et al. BAP1 immunohistochemistry predicts outcomes in a multi-institutional cohort with clear cell renal cell carcinoma *J Urol*. 2014;191(3):603-10
34. Gossage L et al, Clinical and pathological impact of VHL, PBRM1, BAP1, SETD2, KDM6A, and JARID1c in clear cell renal cell carcinoma. *Genes Chromosome & Cancer* 2014;53(1):38-51
35. Joseph RW et al, Loss of BAP1 protein expression is an independent marker of poor prognosis in patients with low-risk clear cell renal cell carcinoma. *Cancer* 2014;120(7):1059-67
36. Kroon BK et al, Probability of downsizing primary tumors of renal cell carcinoma by targeted therapies is related to size at presentation. *Urol* 2013;81(1):111-5
37. Vasudev NS et al, Changes in tumour vessel density upon treatment with anti-angiogenic agents: relationship with response and resistance to therapy. *Brit J Cancer* 2013;109(5):1230-42
38. Khandani AH et al, Primary renal cell carcinoma: relationship between 18F-FDG uptake and response to neoadjuvant sorafenib. *Nuc Med Comm* 2012;33(9):967-73
39. Bharwani N et al, Diffusion-weighted and multiphase contrast-enhanced MRI as surrogate markers of response to neoadjuvant sunitinib in metastatic renal cell carcinoma. *Brit J Cancer* 2014;110(3):616-24
40. Aziz SA et al, Microvessel area as a predictor of sorafenib response in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Cell Int* 2014;14(1):4
41. Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 17174-17179.
42. Thompson RH, Kuntz SM, Leibovich BC et al. Tumor B7-H1 is associated with poor prognosis renal cell carcinoma patients with long-term follow-up. *Cancer Res* 2006; 66: 3381-3385.
43. Choueiri TK, Figueroa DJ, Fay AP, Correlation of PD-L1 Tumor Expression and Treatment Outcomes in Patients with Renal Cell Carcinoma Receiving Sunitinib or Pazopanib: Results from COMPARZ, a Randomized Controlled Trial *Clin Cancer Res*. 2015;21(5):1071-7.

44. Bharwani N et al, Diffusion-weighted and multiphase contrast-enhanced MRI as surrogate markers of response to neoadjuvant sunitinib in metastatic renal cell carcinoma. *Brit J Cancer* 2014;110(3):616-24
45. Namdarian B, et al. Circulating endothelial cells and progenitors: potential biomarkers of renal cell carcinoma. *BJU Int* 2013;106(7):1081-92
46. Dornbusch J et al, Analyses of potential predictive markers and survival data for a response to sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma. *PLoS one* 2013;8(9):e76386
47. Han KS et al, Cancer 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. 2010;116(10):2332-42
48. Kwon W-A, Cho I-C, Yu A, et al, Validation of the MSKCC and Heng Risk Criteria Models for Predicting Survival in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma Treated with Sunitinib. *Annal of Surgical Oncology*, 2013;20:4397-4404
49. Huang D, et al. Sunitinib acts primarily on tumor endothelium rather than tumor cells to inhibit the growth of renal cell carcinoma. *Cancer Research*, 2010 Feb 1;70(3):1053-62
50. Finke J, et al. MDSC as a mechanism of tumor escape from sunitinib mediated anti-angiogenic therapy. *Int Immunopharmacol* 2011;11(7):856-61
51. Shojaei F, et al. HGF/c-Met acts as an alternative angiogenic pathway in sunitinib-resistant tumors. *Cancer Research* 2010;70(24):10090-100
52. Hammers HJ, et al. Reversible epithelial to mesenchymal transition and acquired resistance to sunitinib in patients with renal cell carcinoma: evidence from a xenograft study. *Mol Cancer Ther* 2010;9(6):1525-35
53. Su S et al. *Clinical Cancer Research* 2013 Dec 1;19(23):6461-72
Autotaxin-lysophosphatidic acid signaling axis mediates tumorigenesis and development of acquired resistance to sunitinib in renal cell carcinoma.
54. Kim DS et al, Cancer cells promote survival through depletion of the von Hippel-Lindau tumor suppressor by protein crosslinking. *Oncogene* 2011;30(48):4780-90
55. Ku BM et al, Transglutaminase 2 inhibition found to induce p53 mediated apoptosis in renal cell carcinoma. *FASEB J* 2013;27(9):3487-95
56. Berkers J et al, A possible role for microRNA-141 down-regulation in sunitinib resistant metastatic clear cell renal cell carcinoma through induction of epithelial-to-mesenchymal transition and hypoxia resistance. *J Urology* 2012;11:133

57. Makhov PB et al, Modulation of Akt/mTOR signaling overcomes sunitinib resistance in renal and prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2012;11(7):1510-7 Hammers HJ et al, Reversible epithelial to mesenchymal transition and acquired resistance to sunitinib in patients with renal cell carcinoma: evidence from a xenograft study. *Mol Cancer Ther* 2010;9(6):1525-35
57. Welti JC et al, Fibroblast growth factor 2 regulates endothelial cell sensitivity to sunitinib. *Oncogene* 2011;10;30(10):1183-93
58. Bender C and Ullrich A, PRKX, TTBK2 and RSK4 expression causes Sunitinib resistance in kidney carcinoma- and melanoma-cell lines. *Int J Cancer* 2012;15;131(2):E45-55
59. Gotink KJ et al, Lysosomal sequestration of sunitinib: a novel mechanism of drug resistance. *Clin Cancer Research* 2011;17(23):7337-46
60. Sivaramakrishnan M et al, Transglutaminases and receptor tyrosine kinases. *Amino Acid* 2013;44(1):19-24
61. Wang Z and Griffin The role of TG2 in ECV304-related vasculogenic mimicry. *Amino Acid* 2012;44(1):89-101
62. Budillon A et al, Tissue transglutaminase: a new target to reverse cancer drug resistance. *Amino Acid* 2013;44(1):63-72
63. Kumar S and Mehta K Tissue transglutaminase, inflammation, and cancer: how intimate is the relationship? *Amino Acid* 2013;44(1):81-8
64. Choi CM et al, Transglutaminase 2 as an independent prognostic marker for survival of patients with non-adenocarcinoma subtype of non-small cell lung cancer. *Molecular Cancer* 2011;24(10):119
65. Jeong JH et al Transglutaminase 2 expression predicts progression free survival in non-small cell lung cancer patients treated with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor. *JKMS* 2013;28(7):1005-14

<별첨작성 양식>

[별첨]

자체평가의견서

1. 과제현황

		과제번호	1510650-1		
사업구분	기관고유연구사업				
연구분야	LC0206			과제구분	단위
사업명	기관고유연구사업				주관
총괄과제	신세포암에서 BAP1/PBRM1 유전자 변이 및 혈관 형성 관련인자 발현의 임상적 의의에 관한 연구			총괄책임자	정 진수
과제명	상동			과제유형	(응용)
연구기관	국립암센터			연구책임자	정 진수
연구기간 연구비 (천원)	연차	기간	연구비	민간	계
	1차년도	2015.03.01. ~ 2015/12.31	30,000천원		
	2차년도				
	3차년도				
	계				
참여기업					
상대국	상대국연구기관				

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2015/10/24

3. 평가자(과제책임자) :

소속	직위	성명
비뇨생식기암연구과	책임연구원/연구(의사직)	정 진수

4. 평가자(과제책임자) 확인 : 정 진수

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약	
----	--

I. 연구개발실적

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

1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (우수)

연구 기간이 짧음(2015/03/01부터 연구 시작)에도 불구하고, 방대한 양의 조직(643 cases, 773 tissue sample, 20 candidate marker)으로 연구를 시행하여 현재 환자의 임상상과 최종 결과를 분석하는 중으로 신장암에서 Tissue-based molecular biomarker에 대한 대규모 연구 결과 도출 및 향후 연구의 Pilot study로서 우수한 연구 결과가 기대됨

2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (우수)

신장암에서의 BAP1, PBRM-1 발현의 예후인자로서의 가치를 확인하고 validation할 뿐 만아니라 BAP1 발현과 관련이 있을 것으로 추정되는 mTOR pathway(PTEN, PS6)에 대한 연구를 처음으로 동시에 시행하였으며, 전이신장암의 TKIs 치료시에 Tissue-based molecular biomarker에 대한 대규모 연구를 임상에 쉽게 적용할 수 있는 TMA를 통한 연구를 시행하여 향후 Validation으로 거쳐 환자 예후예측, 치료제 선택, Neoadjuvant TKI 치료의 적절한 환자군선택 등에 도움을 줄 것으로 사료됨.

3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (우수)

신장암환자의 예후를 예측하고 적절한 TKIs치료군을 예측하는 Tissue-based molecular biomarker에 대한 대규모 연구 결과 도출로 향후 추가적인 연구 및 전향적 연구를 통해 매우 활용 가능성이 높은 연구로의 발전이 기대됨.

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : (아주우수)

단기간(2015/03/01 ~ 2015/10)에, 방대한 양의 조직(773 tissue sample) 및 candidate molecular marker (20 marker)에 대한 대규모 TMA 연구로 많은 시간과 상당한 노력이 필요한 연구를 성실히 시행하였으며, 연구목표를 상회하는 연구 결과 도출 및 성과가 기대됨.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : (아주우수)

본 연구의 성과 목표가 2016년까지 논문 2편 작성 및 발표이며, 현재 최종분석이 진행 중으로 원래 연구목표(SCI논문 2편, IF 4)를 상회하는 연구 성과가 기대되며, 현재 관련 논문 1편이 SCI 논문에 투고 중 임.

II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
<p>- 저장된 신세포암 조직 (국소/전이 신세포암)에서 Tissue microarray (TMA)를 이용하여 한국인에서의 BAP1, PBRM1 유전자 변이의 빈도, 예후인자로서의 가치(임상적 의의)에 대한 연구</p>	50	48	<p>- 기존 확보된 국소/전이 신세포암 조직에서 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련 인자들에 대한 Tissue microarray (TMA)제작 및 IHC 시행 여부 : 완료 40%</p> <p>- BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련 인자들의 예후적 가치(임상적 의의)에 대한 분석 및 학회발표여부 : 현재 최종 분석중 8%</p>
<p>- 전이성 신세포암에 대한 TKIs치료 시 치료 반응을 예측할 수 있는 tissue-based molecular biomarker 로써 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련인자, 혈관 형성(angiogenesis) 관련인자, vascularity 관련인자, TGase-2, PD-L1 등의 임상적 가치에 대한 Pilot 연구</p>	50	48	<p>- 기존 확보 및 추가 확보 TKIs 치료 전이성 신세포암 환자의 신장 조직(수술 및 생검, 3-40여례 예정) 및 전이 병소조직(수술 및 생검, 10여례 예정)에서 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련인자, 혈관 형성 관련인자, vascularity 측정 관련인자, TGase-2, PD-L1에 대한 TMA 제작 및 예비 IHC 시행 여부 : 완료 30%</p> <p>- 전이성 신세포암으로 TKIs치료중인 환자의 추가적인 신장 조직(수술 혹은 생검조직) 및 전이 병소 조직(수술 및 생검조직) 확보(5-10여례) 여부 : 8례 확보 10%</p> <p>- 기존 및 추가 확보 전이성 신세포암 조직에 대한 BAP1, PBRM1 유전자변이 및 관련인자, 혈관 형성 관련인자, vascularity 측정 관련인자, TGase-2, PD-L1에 대한 연구 결과 예비 분석 여부 : 현재 최종 분석중 5%</p>
합계	100점	96	현재 연구 결과 최종 분석중으로 관련 논문 1편 SCI-E (IF 3.318)에 Accept되었으며, 2016년 까지 학회 발표 및 논문 추가 작성 계획중임

III. 종합의견

1. 연구개발결과에 대한 종합의견

- 연구 기간이 짧고, 다량의 조직과 여러 biomarker에 대한 연구로 인해 현재 일부 결과 분석이 이루어 졌으며, 완전한 최종 결과 분석은 이루어지지 않은 상태임.
- 최종 결과 분석으로 의미있는 결과 도출시 임상에서 유용한, 활용가능한 신세포암에 대한 tissue biomarker 도출이 가능할 것으로 사료됨.
- 특히 전이 신장암에 대한 표적 치료시에 BAP1, BPRM-1, TG2 expression 에 대한 최초의 연구로 향후 환자 selection 및 counselling, 적절한 치료제의 선택, TG2 inhibitor의 전이 신장암치료제로서의 가능성, BAP1 및 PBRM-1 targeted therapy의 가능성에 대한 결과 도출이 예상됨.

2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 연구 tissue sample 및 candidate biomarker가 많고, 연구 기간이 짧아 (10개월), 아직 최종 결과 분석은 이루어지지않아 및 학회 발표 및 최종 논문 작성까지는 이루어지지 않았으나, 관련 논문 1편은 SCI-E (IF 3.318)에 Accept 되었음.
- 빠른 시간에 결과를 도출하도록 최대한의 노력을 경주할 계획임
- 원래 연구목표가 2016년 말까지 학회 발표 및 논문 작성이므로 평가시 연구 성과보다는 연구수행자체에 중점을 둔 평가가 필요할 것으로 사료됨.
- 현재 관련 논문 한편을 SCI급 저널에 투고 중이며, 한편은 SCI-E (IF 3.318)에 Accept 되었음.

3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 향후 추가적인 조직확보 및 추가적인 다년간의 전향적 연구로 보다 많은 환자수를 대상으로 한 보다 reliable하고 consistent결과 도출예정임
- 향후 internal and external validation 계획 중임.

IV. 보안성 검토

o 해당사항없음

※ 보안성이 필요하다고 판단되는 경우 작성함.

1. 연구책임자의 의견

2. 연구기관 자체의 검토결과