

기관고유연구사업 결과 보고

결	과제책임자	과 장	부 장
재			

※ 협조 :

- 사업단 소속 연구직의 경우 국가암관리사업단장
- 연구(의사직), 의사직, 의학물리학직의 경우 소속 센터장

본인이 수행한 2010 ~ 2010년도 기관고유연구사업 과제 연구결과를 붙임과 같이 보고합니다.

과제명	조기위암에서 장기보존수술 적용을 위한 감시림프절 내 미세전이의 생물학적 소견과 임상적 의의에 대한 연구
과제책임자 (소속, 성명)	위암연구과 류근원
총연구비	95,000천원 (2009년: 45,000, 2010년: 50,000)
총연구기간	2009년 3월 1일 ~ 2010년 12월 31일

붙임 : 기관고유연구사업 최종보고서 1부

2010 년 12 월 31 일

과제책임자 류 근 원

작성요령

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

- 인쇄
 - A4용지에 본문 글자 크기는 10 point(표, 그림, 제목 제외)로 인쇄
 - 본 서식 중 좌상단의 편집순서 네모상자와 서식내 표로된 안내문 등 필요하지 않은 내용은 모두 제외
 - [편집순서 4 : 요약문(한글)]을 1페이지로 시작하여야 하며, [편집순서 3 : 목차]에는 정확한 페이지수를 기재하여야 함
 - 반드시 좌절을 하여야 함

(과제번호 : 1010490-1)

조기위암에서 장기보존수술 적용을 위한 감시림프절 내 미세전이의
생물학적 소견과 임상적 의의에 대한 연구

(Biologic feature and clinical significance of micrometastasis in
sentinel node for application of organ preserving surgery in early
gastric cancer)

과제책임자 : 류 근 원

국 립 암 셴 터

1. 이 보고서는 국립암센터 기관고유연구 사업 최종보고서입니다.

2. 이 보고서 내용을 인용할 때에는 반드시 국립암센터 연구사업 결과임을 밝혀야 합니다.

제 출 문

국립암센터 원장 귀하

이 보고서를 기관고유연구사업 “조기위암에서 장기보존수술 적용을 위한
갑시림프절 내 미세전이의 생물학적 소견과 임상적 의의에 대한 연구” 과
제의 최종보고서로 제출합니다.

2010. 12. 31.

국립암센터

과제책임자 : 류근원

연구원 : 국명철

” : 홍은경

” : 전경희

” : 김석기

” : 이준호

” : 조민정

목 차

< 요약 문 >

(한글) 조기위암에서 장기보존수술 적용을 위한 감시림프절 내 미세전이의 생물학적 소견과 임상적 의의에 대한 연구

(영문) Biologic feature and clinical significance of micrometastasis in sentinel node for application of organ preserving surgery in early gastric cancer

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

※ 여러개의 세부과제로 과제가 구성된 경우 위 목차와 동일하게 세부과제별로 작성함

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

< 요약 문 >

연구분야(코드)	B-3	과제번호	1010490-1
과 제 명	조기위암에서 장기보존수술 적용을 위한 감시림프절 내 미세전이의 생물학적 소견과 임상적 의의에 대한 연구		
연구기간/연구비 (천원)	합계	2009년 3월 1일 ~ 2010년 12월 31일	95,000
	1차년도	2009년 3월 1일 ~ 2009년 12월 31일	45,000
	2차년도	2010년 1월 1일 ~ 2010년 12월 31일	50,000
	3차년도	년 월 일 ~ 년 월 일	
과제책임자	성 명	류 근 원	주민등록번호
	전화번호	031-920-1628	전 자 우 편 docryu@korea.com
색인단어	국문	조기위암, 감시림프절, 미세전이, 장기보존수술	
	영문	Early gastric cancer, Sentinel node, Micrometastasis, Organ preserving surgery	

◆ 연구목표

<최종목표>

- 조기위암 환자에서 감시림프절내 존재하는 미세전이에 대한 생물학적 소견과 임상적 의의를 연구함으로써 감시림프절생검시 미세전이가 진단될 경우의 장기보존 수술적용여부를 판단하고 시행함으로써 장기생존 조기위암환자의 삶의 질을 향상시킨다.

<당해년도 목표>

- 감시림프절 생검을 시행하였던 조기위암환자에서 감시림프절내에 존재하는 미세전이의 생사 여부 운명을 Cytokeratin, Ki-67, TUNEL 염색 및 Apoptosis와 관련된 인자들을 이용하여 확인하고 이들 환자의 재발 및 생존여부의 임상자료와 비교 분석한다.

- 원발종양 및 림프절내 전이병변의 특이적 항원에 대한 면역염색 및 분석

◆ 연구내용 및 방법

- 최근 위암발생 양상은 정기검진으로 인하여 조기위암이 점차 늘어가는 추세이며 이 경우 림프절 전이 빈도가 약 15% 정도로 낮으나 수술전 또는 수술중 진단할 수 있는 방법이 부재하며 위절제술 및 림프절 광청술의 시행하고 있다. 이와같은 치료방법은 만족할만한 장기생존율을 보이고 있으나, 이러한 장기생존환자들은 위절제술로 인한 장단기적 삶의 질이 악화되는 결과를 초래하고 있다. 이들 환자에서 삶의 질을 개선하기 위하여, 림프절 전이를 정확히 진단하고 이를 바탕으로 비침습적 장기보존 수술을 시행함으로써 위절제술로 인한 삶의 질을 개선할 필요성이 절실히 요구되고 있음.

- 조기위암의 림프절에서 발견되는 미세전이가 명백한 전이로 진행할지 또는 세포사멸로 진행하는지의 운명을 병리학적, 분자생물학적으로 규명하고 임상적 의의를 알아보고자 함.

- 감시림프절 생검의 임상연구를 시행했던 환자들중 림프절 전이가 확인된 50여명 환자의 200여개의 림프절을 대상으로 하여 cytokeratin의 면역염색으로 미세전이어부를 판단하고

TUNEL 염색과 Ki-67에 대한 면역염색을 시행하고 Bcl-2등의 인자들을 분자생물학적 방법으로 규명하여 전이여부와 예후와의 상관관계를 알아봄.

- 또한 위암특이적 항체로 알려진 Folate, Herceptin, CEA, E-cadherin, P-cadherin, CD44v6에 대하여 발현여부를 관찰한다.

◆ 연구성과

-정량적 성과

구분	달성치/목표치 ¹⁾	달성도(%)
SCI 논문 편수	4 / 2	200 %
IF 합	7.564 / 8	94.6 %
기타 성과	추가논문예정	

1) 총연구기간내 목표 연구성과로 기 제출한 값

-정성적 성과

1. 항후 감시림프절 생검의 임상시험의 발판마련
2. 항후 중앙특이적 감시림프절 추적자 개발의 대상물질 발견

◆ 참여연구원
(최종연도 참여인원)

성 명

류근원, 국명철, 홍은경, 이준호, 전경희, 김석기, 조민정

주민등록번호

*****-*****, *****-*****, *****-*****,
*****-*****

Project Summary

Title of Project	Biologic feature and clinical significance of micrometastasis in sentinel node for application of organ preserving surgery in early gastric cancer
Key Words	Early gastric cancer, Sentinel node, Micrometastasis, Organ preserving surgery
Project Leader	Ryu Keun Won
Associated Company	
<p>The incidence of lymph node metastasis is around 15% and the overall five year survival is more than 90% in early gastric cancer patient. However there is no accurate diagnostic modality of lymph node metastasis in such patients. Therefore gastrectomy with lymph node dissection was routinely performed in most of patients and as a result, quality of life is impaired in long term survivors. Sentinel node biopsy is recently investigating intraperative technique to detect and diagnosing metastatic lymph node using dye and radioisotope. According to the presence of metastasis in sentinel node, surgical procedure could be determined between standard gastrectomy vs. organ preserving surgery. However, several controversial issues are debating including surgical option with micrometastasis in sentinel node because the biologic fate and prognostic significance of micrometastasis in sentinel node was not determined. In this study, the investigators will explore such debate and establish the basis for application of organ preserving surgery in early gastric cancer. From May 2002 to April 2007, sentinel node biopsy was performed in 156 gastric cancer patients with various methods at National Cancer Center. Harvested sentinel node were nearly 400 and stored in paraffin-embedded block. Micrometasatsis in sentinel node will be identified by immunohistochemical stain with cytokeratin. And tissue microarray will be made focusing the metastatic focus. To evaluate the proliferative and apoptotic activity of micrometastasis, immunohistochemical stain of Ki-67 and TUNEL stain will be performed and interpreted by special pathologist. After microdissection of tumor foci, factors concerning the cell survival and death such as bcl-2, survivin will be investigastred by RT-PCR. All the experimental data will be analyzed with clinical data such as lymph node metastatic pattern, recurrence, survival. All of the statistical analyses were performed using the statistical software 'Statistical Package for Social Science' (SPSS) version 9.0 for Windows (SPSS, Inc, Chicago, IL,USA). Intergroup comparisons of the clinicopathological and experimental variables were analyzed using the Student's test for continuous variables and two-tailed chi-square tests for discrete variables. The Kaplan-Meier method was used for calculating the survival rate and the difference between the curves was assessed using the log-rank test. The accepted level of significance was a $P < 0.05$.</p>	

1. 연구의 최종목표

조기위암 환자에서 감시림프절 내 존재하는 미세전이에 대한 생물학적 소견과 임상적 의의를 연구함으로써 감시림프절생검시 미세전이가 진단될 경우의 장기보존 수술적용여부를 판단하고 시행함으로써 장기생존 조기위암환자의 삶의 질을 향상시킨다. 감시림프절 생검의 임상연구를 시행했던 조기위암 환자들 중 림프절 전이가 확인된 50여명 환자의 200여개의 림프절을 대상으로 하여 감시림프절내에 존재하는 미세전이의 생사여부 운명을 Cytokeratin, Ki-67, TUNEL 염색 및 Apoptosis와 관련된 인자들인 Bcl-2, Survivin을 이용하여 확인하고 이들 환자의 재발 및 생존여부의 임상자료와 비교 분석한다.

2. 연구의 내용 및 결과

연구 대상 림프절에 대하여 Cytokeratin, Ki-67, Bcl-2, Survivin 에 대한 immunohistochemistry (IHC) 와 TUNEL stain 은 시행을 완료후 병리학적 결과 판독하였음. 활용 가능한 림프절 조직은 모두 99 node이었으며, Isolated tumor cell 9, micrometastasis 37, macrometastasis 53 nodes에서 확인 가능하였음. Apoptosis 의 증거가 되는 TUNEL 염색성공 및 양성소견을 보인 림프절내 전이세포는 각각, 4예 0.8%, 25예 1.0%, 53예 3.0%의 소견을 보였다. 또한 Proliferation 의 증거가 되는 Ki-67 염색성공 및 양성소견을 보인 림프절 내 전이 세포는 각각 4예 17.2%, 26.7%, 40.5% 있었으나 bcl-2, survivin 의 경우 대부분 negative 또는 positive 소견을 보여 임상적인 분석에 이용하기 어려울 것으로 사료된다. 또한 추가적인 원발종양에서의 TUNEL, Ki-67 expression을 관찰하여 임상자료와 함께 분석을 시행할 예정이다.

또한 원발종양 및 전이성 림프절에 공통적으로 발현되는 항체를 찾기 위한 검사 또한 folate receptor를 제외하고 분석하였다. 평가 가능한 원발종양에서 CEA, E-cadherin, P-cadherin, CD44v6, c-erbB2의 expression 은 각각 75.4%, 97.1%, 89.9%, 11.1%, 2.9% 이었음. 또한 이들 양성환자에서 전이림프절내 전이세포가 양성을 보인경우는 각각 71.4%, 100%, 83.7%, 0%, 0% 이었다. 따라서 가장 이상적인 감시림프절 추적자의 표적물질이 될 수 있는 것은 결과에서 보는 것과 같이 원발종양에서 97.1%의 발현을 보이며, 전이 림프절 내 전이세포에서는 100%를 보이는 E-cadherin 이라는 항체를 발견하게 되었다.

3. 연구결과 고찰 및 결론

상기 연구내용 및 결과를 바탕으로 임상자료와 연관하여 추가적인 분석예정이며, 이러한 자료를 바탕으로 추가적인 논문 작성이 가능할 것으로 판단된다. 또한 향후 감시림프절 생검을 임상에 적용할 수 있는 기본 자료로 활용될 수 있을 것으로 예상됨. 또한 현재에 사용되는 색소 및 동위원

소와 같은 단수 추적자보다 전이암세포에 특이적으로 결합할 수 있는 특이 항체에 대한 추적자 개발에 대상물질을 발견함으로써, 향후 그 이론적 배경으로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

4. 연구성과 및 목표달성도

(1) 연구성과

가. 국내 및 국제 전문학술지 논문 게재 및 신청

논문명	저자 (저자구분 ¹⁾)	저널명(IF.)	Year; Vol(No):Page	구분 ²⁾	지원과제번호 ³⁾
Oncologic Effectiveness of Regular Follow-up to Detect Recurrence After Curative Resection of Gastric Cancer.	교신	Ann Surg Oncol IF 4.130	2010 Nov 2. [Epub ahead of print]	국외 SCI	1010490-1
Predictors of Timing and Patterns of Recurrence after Curative Resection for Gastric Cancer.	교신	Dig Surg IF 1.372	2010 Nov 10;27(6):481-486.	국외 SCI	1010490-1
Laparoscopy-assisted distal gastrectomy combined with laparoscopic spleen-preserving distal pancreatectomy for the treatment of early gastric cancer with pancreatic cystic neoplasm.	교신	J Laparoendosc Adv Surg Tech A IF 1.012	2010 Sep;20(7):643-7.	국외 SCI	1010490-1
Gastogastric intussusceptions secondary to a gastric carcinoma	교신	Surgery Today IF 1.050	Accepted	국외 SCI	1010490-1

1) 저자구분 : 교신, 제1, 공동

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

3) 지원과제번호(Acknowledgement)

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

나. 국내 및 국제 학술대회 논문 발표

논문명	저자	학술대회명	지역 ¹⁾	지원과제번호
Is the SNB clinically applicable in gastric cancer? A meta-analysis of feasibility studies.	류근원 외,	The 82 nd annual meeting of Japanese gastric cancer association The 7 th International Sentinel Node Society Meeting	Niigata, Japan Yokohama, Japan.	1010490-1
Laparoscopy-assisted distal gastrectomy combined with laparoscopic spleen-preserving distal pancreatectomy	류근원 외,	18 th EAES	Geneva, Switzerland	1010490-1
Predictors of timing and patterns of recurrence after curative resection for gastric cancer	류근원 외,	20 th IASGO	Cairo, Egypt	1010490-1

1) 지역 : 국내, 국외

다. 산업재산권

구분 ¹⁾	특허명	출원인	출원국	출원번호

1) 구분 : 발명특허, 실용신안, 의장등록 등

라. 저서

저서명	저자	발행기관(발행국, 도시)	쪽수	Chapter 제목, 쪽수 (공저일 경우)

마. 연구성과의 정부정책 기여

보고서명	정부정책	기여내용

바. 기타연구성과

(2) 목표달성도

가. 연구목표의 달성도

최종목표	연차별목표		달성내용	달성도(%)	
				연차	최종
	1차년도	cT1N1 전이림프절에 대한 CK, TUNEL, Ki-67 면역염색	Target molecules 에 대한 immunohistochemistry 시행	100	80
		세포사멸과 관련된 bcl-2 등의 인자에 대한 분자생물학적 검증	micrometastasis 에 대한 isolation 후 실험해야 하는 기술적난이도로 인하여 예비실험 후 시행하지 못함	50	
		미세전이와 재발, 생존율 등의 임상적 의의 검증	임상자료에 대한 수집은 완성되었음. 병리학적 소견 관독후 분석예정임.	70	
	2차년도	감시림프절내 미세전이에 대한 증식 사멸 관련 면역염색 및 분석	대상 염색방법에 대한 모든 염색 및 관독은 종료하였음. 임상자료와 연관된 분석 및 논문작성 남아있음.	100	95
		원발종양 및 림프절내 전이병변의 특이적 항원에 대한 면역염색 및 분석	Folate receptor에 대한 병리학적 관독 미실시 상황이며, 나머지에 대해서는 임상자료와 분석예정임	90	
	3차년도				

나. 평가의 착안점에 따른 목표달성도에 대한 자체평가

평가의 착안점	자 체 평 가
감시림프절내 미세전이에 대한 증식 사멸관련 면역염색 및 분석 및 임상적의의	관련 인자들에 대한 면역염색은 완성되었으며 병리학적 결과 관독된 상태로 임상자료와 함께 분석하여 논문으로 제출 예정임.
원발종양과 림프절내 전이암세포에 발현하는 특이항원의 발견	folate receptor 이외의 모든 병리학적 자료는 확보되었으며 이도한 염색되어 있는 상태임. 병리학적 관독후 임상자료와 함께 분석 및 논문 제출예정임.

5. 연구결과의 활용계획

(1) 연구종료 2년후 예상 연구성과

구 분	건 수	비 고
학술지 논문 게재	2	해외 SCI
산업재산권 등록		특허 등록 예상 국가, 예상 특허명 등
기 타		

(2) 연구성과의 활용계획

(가) 임상적인 측면

- 향후 추가적인 연구가 필요할것으로 사료되나, 본 연구 결과로 조기위암의 림프절내에서 발견되는 미세전이의 운명에 대하여 세포증식 및 사멸의 인자들로 관찰함으로써 이러한 병변이 향후에 명백한 전이로 이행되는지에 대해 규명함 할수 있었다. 따라서 향후 감시림프절을 이용하여 조기위암 환자에서 장기보존 수술을 시행하기위한 다기관 3상 연구의 기본 자료로 사용될수 있을 것으로 사료된다.

(나) 지식 및 기술적인 측면

- 현재까지 감시림프절생검에 사용해오던 색소 및 동위원소와 같은 단순한 해부학적 추적자 이외에 전이암에 대한 특이항원을 표적으로하는 추적자 개발에 기초적인 자료를 제시하고 이를 개발하여 임상에 적용할수 있을것으로 사료된다.

6. 참고문헌

1. Ryu KW, Lee JH, Kim HS, et al. Prediction of lymph nodes metastasis by sentinel node biopsy in gastric cancer. *Eur J Surg Oncol* 2003; 29:895-899.
2. Lee JH, Ryu KW, Kim CG, et al. Sentinel node biopsy using dye and isotope double tracers in early gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2006; 13:1168-1174.
3. Lee JH, Ryu KW, Kook MC, et al. Feasibility of laparoscopic sentinel basin dissection for limited resection in early gastric cancer. *J Surg Oncol* 2008;98(5):331-335.1.
4. Lee JH, Ryu KW, Nam BH, et al. Factors associated with detection failure and false-negative sentinel node biopsy findings in gastric cancer: Results of prospective single center trials. *J Surg Oncol* 2009;99:137-142.
5. Yanagita S, Natsugoe S, Uenosono Y, et al. Sentinel node micrometastases have high proliferative potential in gastric cancer. *J Surg Res* 2008;145:238-243.
6. Yanagita S, Natsugoe S, Uenosono Y, et al. Morphological distribution of metastatic foci in sentinel lymph nodes with gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2008;15:770-776.
7. Kim JH, Kim MA, Lee HS, Kim WH. Comparative analysis of protein expressions in primary and metastatic gastric carcinomas. *Hum Pathol.* 2009 Mar;40(3):314-22.
8. Ryu KW, Eom BW, Nam BH, Lee JH, Kook MC, Choi IJ, Kim YW. Is the sentinel node biopsy clinically applicable for limited lymphadenectomy and modified gastrectomy in gastric cancer? A meta-analysis of feasibility studies. (*J Surg Oncol*, under review)

7. 첨부서류

Oncologic Effectiveness of Regular Follow-up to Detect Recurrence After Curative Resection of Gastric Cancer. Eom BW, Ryu KW, Lee JH, Choi IJ, Kook MC, Cho SJ, Lee JY, Kim CG, Park SR, Lee JS, Kim YW. *Ann Surg Oncol*. 2010 Nov 2. [Epub ahead of print]

Predictors of Timing and Patterns of Recurrence after Curative Resection for Gastric Cancer. Eom BW, Yoon H, Ryu KW, Lee JH, Cho SJ, Lee JY, Kim CG, Choi IJ, Lee JS, Kook MC, Park SR, Nam BH, Kim YW. *Dig Surg*. 2010 Nov 10;27(6):481-486. [Epub ahead of print]

Laparoscopy-assisted distal gastrectomy combined with laparoscopic spleen-preserving distal pancreatectomy for the treatment of early gastric cancer with pancreatic cystic neoplasm. Eom BW, Yoon H, Han SS, Ryu KW, Lee JH, Kim SH, Lee KW, Park SJ, Kim YW. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2010 Sep;20(7):643-7.

Gastogastric intussusceptions secondary to a gastric carcinoma. Eom BW, Yoon HM, Ryu KW, Lee JH, Cho SJ, Lee JY, Kim CG, Choi IJ, Park SR, Lee JY, Park YI, Lee JS, Kook MC, Kim YW. *Surg Today*, acceptance letter.