기관고유연구사업 결과보고서

(과제번호 : 0510200)

# 전립선암의 분자생물학적 병기

# Molecular Staging of Prostate Adenocarcinoma

과제책임자 : 이 강 현

국 립 암 센 터

↑
5cm
↓

전
립
선
암
의

분
자
생
물
학
적

병
기

국
립
암
센
터

↑
3cm
↓

1. 이 보고서는 국립암센터 기관고유연구 사업 결과보고서입니다.

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

↑
6cm↓

# 제 출 문

국립암센터 원장 귀하

이 보고서를 기관고유연구사업 “전립선암의 분자생물학적 병기” 과제의 결과보고서로 제출합니다.

2007. 12. 31

국 립 암 센 터

과 제 책 임 자 : 이 강 현
연 구 원 : 박 원 서
〃 : 정 재 영
〃 : 김 승 희
〃 : 조 윤 진
〃 : 최 문 경

.

참여기업명 : 없음

편집순서 3 : 목차

# 목　　　차

< 요 약 문 >

(한글)------------------------------------ 1

(영문)------------------------------------ 4

1. 연구사업의 최종목표--------------------- 6

2. 연구사업의 내용 및 결과----------------- 10

3. 연구결과 고찰 및 결론------------------- 18

4. 연구성과 및 목표달성도------------------ 19

5. 연구결과의 활용계획--------------------- 23

6. 참고문헌------------------------------ 24

7. 첨부서류

# < 요 약 문 >

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 연구분야(코드) | 실용화 연구(B-3) | | 과제번호 | 0510200 |
| 과 제 명 | 전립선암의 분자생물학적 병기 | | | |
| 연구기간/연구비 (천원) | 합계 | 2005년 3월 1일 ~ 2007년 12월 31일 | | 220,100 |
| | 1차년도 | 2005년 3월 1일 ~ 2005년 12월 31일 | | 79,000 |
| | 2차년도 | 2006년 1월 1일 ~ 2006년 12월 31일 | | 71,100 |
| | 3차년도 | 2007년 1월 1일 ~ 2007년 12월 31일 | | 70,000 |
| 과제책임자 | 성 명 | 이 강 현 | 주민등록번호 | |
| | 전화번호 | 031-920-1505 | 전 자 우 편 | uroonco@ncc.re.kr |
| 색인단어 | 국문 | 전립선, 선암, 분자생물학적 병기 | | |
| | 영문 | prostate, adenocarcinoma, molecular staging | | |

## ◆ 연구목표

<최종목표>

전립선 선암환자의 혈액 및 조직에서의 전립선암의 주요 표지자의 발현을 확인하여 전립선암 DB 구축을 통해 얻은 기존의 예후 인자와의 상관관계를 확인하고 임상 경과와 비교하여 재발 및 진행의 예측인자로서의 가치를 검증함으로써 병기 결정시의 미세전이의 진단, 미세전이의 여부를 고려한 적절한 일차적 치료방법의 결정 그리고 일차적인 치료 후 적극적인 관찰 혹은 추가적인 치료의 결정에 있어 효율적인 표지자를 발굴하여 분자생물학적 병기에 적용

<세부목표>

- 전립선 선암환자의 말초혈액에서 전립선암의 주요 표지자 (PSA, PSMA, PSCA 및 hK-2) mRNA를 RT-PCR을 이용하여 확인함으로써 혈액 중의 전립선암종세포를 확인
- 절제 및 조직검사를 통해 얻은 전립선암 조직에서의 전립선암의 주요 표지자의 단백 발현을 면역화학적 방법을 통하여 확인
- 전립선암의 주요 표지자의 발현을 포함하여 전립선암 환자의 임상 DB 개발 및 구축
- 기존의 주요 예후인자로 인정되고 있는 전립선암의 임상-병리학적 병기, 분화도, 전립선 피막외 침범, 그리고 종양내 미세혈관 및 임파선의 침윤 및 정낭의 침윤 등과 같은 병리학적 특성을 RT-PCR 및 Immunohistochemistry를 통한 주요 표지자의 발현 사이의 상관관계를 검증
- 치료 후 환자의 경과를 관찰하여 주요 표지자의 발현과 생화학적 재발사이의 연관성을 확인함으로써 환자의 예후를 판단하는데 있어 분자생물학적 병기의 유효성을 확인
- 미세전이를 확인하는 분자생물학적 병기를 일차적인 치료 방법의 결정과 치료 후 환자의 경과를 예측 가능함으로써 적극적인 관찰 및 추가적인 치료 결정에 이용

<당해년도 목표>

- 60례의 환자혈액 채취
- RT-PCR 시행
- 면역 조직화학 검사(tissue microarray)
- 임상정보와의 상관관계 분석

## ◆ 연구성과

-정량적 성과

| 구분 | 달성치/목표치[1)] | 달성도(%) |
|---|---|---|
| SCI 논문 편수 | 10/6 | 167% |
| IF 합 | 23.093/15 | 154% |
| 기타 성과 | | |

1) 총연구기간내 목표 연구성과로 기 제출한 값

<정성적 성과>

- 전립선 선암 환자의 병기 측정 및 예후 예측에 도움이 될 분자생물학적 인자를 확인
- 분자생물학적 병기 결정을 통해 전립선암환자의 진료에 실제 이용 가능하도록 함.
- 전립선 선암환자의 병기와 혈액내 암세포의 존재사이의 상관관계 분석을 통하여 암의 전이에 관한 지식을 넓힐 수 있으리라 생각함.
- 분자 표지자를 이용한 암 진단법을 개발함으로써 의료산업에 발전에 기여가능 ·

<table>
<tr><td rowspan="2">◆ 참여연구원<br>(최종연도 참여인원)</td><td>성 명</td><td>이강현, 박원서, 정재영, 조윤진, 김승희, 최문경</td></tr>
<tr><td>주민등록번호</td><td></td></tr>
</table>

# Project Summary

| | |
|---|---|
| Title of Project | Molecular staging of prostate adenocarcinoma |
| Key Words | prostate, adenocarcinoma, molecular staging |
| Project Leader | Lee Kang Hyun |
| Associated Company | None |

**Objectives**: To determine whether detection of molecular marker expression has potential for molecular staging in prostate cancer (PCa) and construct Prostate Cancer Data Base (DB).

**Methods**: This study comprised 160 patients who received the treatment of prostate cancer at National Cancer Center between March 2005, and December, 2007. Prostate-specific antigen(PSA), prostate stem cell antigen (PSCA), prostate specific membrane antigen (PSMA), and human kallikrein-2 (hK2) were included as target markers for prostate cancer cells in blood. We employed reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) to detect target markers mRNA-bearing cells in peripheral blood. We also constructed tumor tissue microarrays and analyzed specific protein expression in tissue by immunohistochemistry (IHC) including PSA, PSCA, PSMA, Alpha-methylacyl-CoA racemase (AMACR), Epidermal growth factor receptor (EGFR) and bcl-2. We tried to examine the relationship between clinicopathologic parameters, biochemical recurrence (BCR), and molecular markers expression.

**Results**: PSA, PSCA, PSMA, and hK2-mRNA was detected in the peripheral blood of 13 (8.5%), 18 (12.7%), 16 (11.3%) and 4 (2.8%), respectively. Patients with seminal vesicle (SV) invasion and high grade tumor tended to be PSCA and PSMA positive in blood, but which was not statistically significant ($P > 0.05$). IHC analysis showed that EGFR was positively stained in 48.3% in patients with high PSA (≧20ng/ml) compared with 23.1% in those with low PSA (<10ng/ml), which demonstrated that the serum PSA was significantly related to EGFR expression in tumor tissue ($P=0.036$). There was also a significant difference in EGFR ($P=0.042$) and bcl-2 positivity ($P=0.043$) according to whether or not the tumor was prostate-confined.

Follow-up data were available for 119 patients who underwent radical prostatectomy. There were no deaths at the time of analysis. The median follow-up was 16.9 months (range 1-33 months). During the follow-up period, BCR developed in 16 patients (13.1%) after radical prostatectomy. Univariate analysis identified the following prognostic factors, increasing the risk of BCR: PSA≧20ng/ml (P=0.02), GS≧7 (P=0.01), SV invasion (P<0.01), RT-PCR PSCA positivity (P= 0.03), and RT-PCR overall positivity (P=0.02). Multivariate analysis showed that SV invasion (HR, 8.137; 95% CI, 1.91-34.52; P>0.01) and RT-PCR PSCA positivity (HR, 11.96; 95% CI, 1.33-107.38; P=0.02) were significant predictors of BCR.

**Conclusions:** We established NCC Prostate Cancer DB including clinicopathologic information, blood and prostate tissue. By RT-PCR and IHC analysis of tissue microarrays, we can detect molecular markers expression in blood and tumors. RT-PCR PSCA positivity in peripheral blood is independent prognostic factor for predicting BCR following radical prostatectomy.

## 1. 연구사업의 최종목표

가. 최종목표

전립선 선암환자의 혈액 및 조직에서의 전립선암의 주요 표지자의 발현을 확인하여 전립선암 DB 구축을 통해 얻은 기존의 예후 인자와의 상관관계를 확인하고 임상 경과와 비교하여 재발 및 진행의 예측인자로서의 가치를 검증함으로써 병기 결정시의 미세전이의 진단, 미세전이의 여부를 고려한 적절한 일차적 치료방법의 결정 그리고 일차적인 치료 후 적극적인 관찰 혹은 추가적인 치료의 결정에 있어 효율적인 표지자를 발굴하여 분자생물학적 병기에 적용

나. 세부목표

-전립선 선암환자의 말초혈액에서 전립선암의 주요 표지자 (PSA, PSMA, PSCA 및 hK2) mRNA를 RT-PCR을 이용하여 확인함으로써 혈액 중의 전립선암종세포를 확인

- 절제 및 조직검사를 통해 얻은 전립선암 조직에서의 전립선암의 주요 표지자의 단백발현을 면역화학적 방법을 통하여 확인
- 전립선암의 주요 표지자의 발현을 포함하여 전립선암 환자의 임상 DB 개발 및 구축
- 기존의 주요 예후인자로 인정되고 있는 전립선암의 임상-병리학적 병기, 분화도, 전립선 피막외 침범, 그리고 종양내 미세혈관 및 임파선의 침윤 및 정낭의 침윤 등과 같은 병리학적 특성을 RT-PCR 및 Immunohistochemistry를 통한 주요 표지자의 발현 사이의 상관관계를 검증
- 치료 후 환자의 경과를 관찰하여 주요 표지자의 발현과 생화학적 재발사이의 연관성을 확인함으로써 환자의 예후를 판단하는데 있어 분자생물학적 병기의 유효성을 확인
- 미세전이를 확인하는 분자생물학적 병기를 일차적인 치료 방법의 결정과 치료 후 환자의 경과를 예측 가능함으로써 적극적인 관찰 및 추가적인 치료 결정에 이용

## 2. 연구사업의 내용 및 결과

### 가.연구수행방법

#### 말초단핵구의분리및RNA의분리

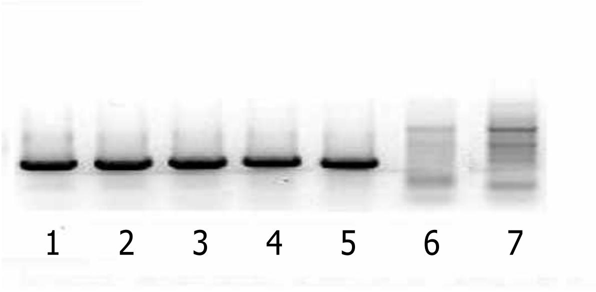
EDTA처리된 전혈로부터 유핵세포분획을  Percoll gradient (Pharmacia, Freiburg, Germany) 원심분리로 얻는다. 총 RNA를 RNeasy kit (Qiagen, Hilden, Germany)로 분리한 후 즉시 얼려 -70C에 보관한다. 조직의 RNA는 TRIzol reagent (Invitrogen, Carlsbad, CA)로 분리 한다.

#### 역전사.

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

RT-PCR측정의 민감도.

RT-PCR 측정의 민감도는 LNCaP 세포를 음성 대조군의 말초 단핵세포로 희석하여 측정한다. 말초단핵 세포는 앞에 기술된바와 같이 분리하고 세포 수를 측정한다. LNCaP 세포는 말초단핵세포에 다음의 비로 희석한다; 0:$10^7$, 1:$10^7$, 10:$10^7$, 100:$10^7$, 및 1,000:$10^7$. RNA 분리 및 RT-PCR을 시행한다.



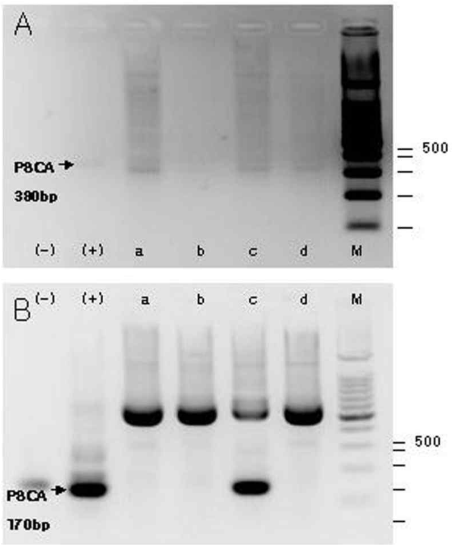

Lane : LNCap cell / $10^7$ PBMC
1 : 100,000
2 : 10,000
3 : 1,000
4 : 100
5 : 10
6 : 1
7 : PBMC only

Figure 1. RT-PCR assay sensitivity test: dilution of LNCaP cells into $10^7$ peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of normal donors.

PCR산물의분석.

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

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




면역조직화학적염색.
환자의 생검 또는 절제된 전립선조직의 파라핀블록을 병리과에서 검색하여 면역조직화학적 검색을 시행한다. 파라핀 포매 조직을 박절하여 탈 파라핀 후 SLAB kit (Dako Co., Carpinteria, USA)를 이용하여 면역 조직 화학 염색을 시행한다. 먼저 과산화수소수로 조직의 peroxidase 활성을 없애고, 정상 염소혈청을 1시간 반응시켜 비특이적 반응을 억제한 후 일차 항체(AMACR, PSA, PSMA, 및 PSCA)를 4℃에서 18시간 반응시키고, 연결항체(linking antibody)로 정제된 바이오틴을 붙인 마우스 IgG에 대한 염소의 항체(goat anti-mouse IgG)를 적용하고, 스트렙트아비딘과 서양고추냉이 과산화효소(horseradish peroxidase)복합체를 첨가한다. 발색은 diaminobenzidine (DAB, Dako)을 이용하며, 과산화수소를 첨가한 DAB용액을 가한 후 양성 대조군 조직이 양성을 보이는 순간에 증류수로 세척하여 반응을 중지시킨다. 각 반응 사이에는 인산화 완충 식염수(phosphate buffered saline, PBS)로 세척하고, 반응 양상은 헤마톡실린을 동시에 시행하여 현미경 검경을 시행하여 분석한다.

Tissuemicroarray(TMA)
환자의 생검조직에 대한 tissue microarray를 제작하여 면역조직화학 염색을 시행한다. 종양과 정상조직을 각각 샘플마다 3군데씩 현미경 관찰 하에 선택한다. 선택된 부분에 해당하는 파라핀블록을 3mm의 core을 잘라내어 TMA제작을 시행한다. 이후 면역조직화학염색은 위에 기술한 바와 같이 시행한다.

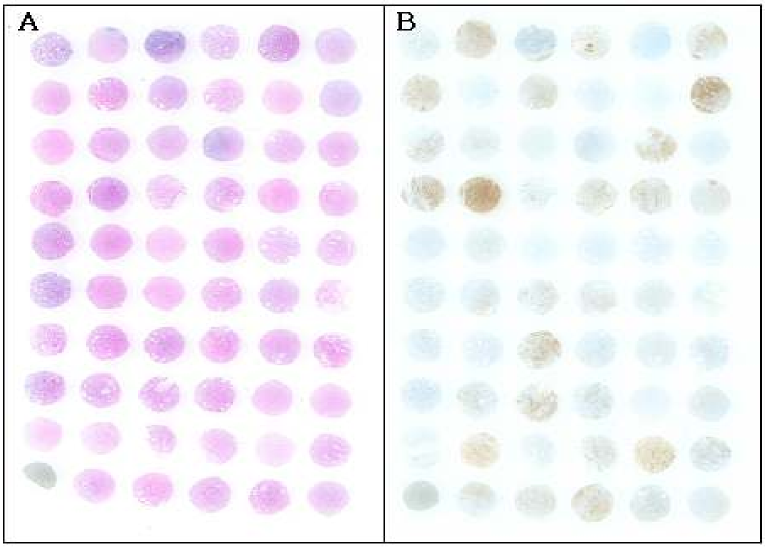


Figure 3. Tissue microarray construction (each 3 mm in diameter); Sections of each prostate tissue array block are transferred to glass slides. (A) H&E stain, (B) PSCA stain

**대상환자.**

국립암센터의 비뇨기종양클리닉의 환자 중 환자 또는 보호자의 동의를 얻은 경우 본 연구를 시행한다. 대상환자는 생검 또는 절제술로 전립선 선암 진단을 받은 증례들로 환자의 말초혈액에서 얻어 연구에 이용한다. 대상 환자는 일차년도(2005년)에 40례, 2차년도(2006년)에는 50례, 3차년도에는 60례를 목표로 한다.

**통계학적분석.**

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

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

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

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

### 나. 연구수행 내용 및 결과

1) 대조군을 이용한 RT-PCR 의 조건 확립과 대상 환자의 말초 혈액에서의 mRNA 검출

정상 대조군을 이용하여 RT-PCR 검사 기법의 민감도를 확립하여 실제 전립선암 환자 혈액에서 PSA, PSMA, PSCA 및 kallikrein의 mRNA를 확인함으로써 혈액 중에 존재하는 전립선암종세포의 존재를 간접적으로 확인할 수 있었다 (Figure 4).

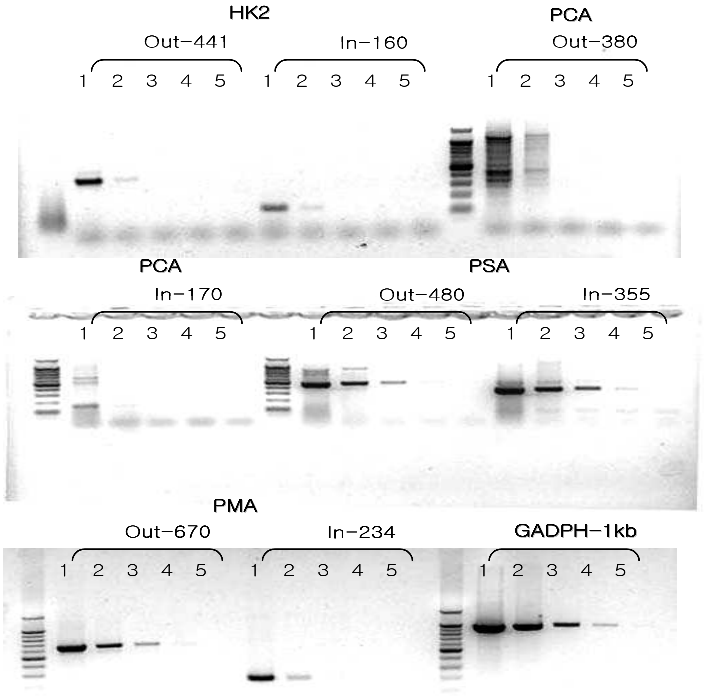



Figure 4. Detection of specific mRNA bearing cell by RT-PCR technique

2) 연구 대상의 임상적 특성

연구 기간 동안 160명의 전립선암 환자를 대상으로 연구를 시행하였으며 분석 시기까지 RT-PCR 결과가 확인 된 142명을 대상으로 결과를 분석하였다. 대상 환자의 평균 연령은 66.2세 (49-80세)이며 임상적 특성은 Table 1 과 같다.

Table 1. Patients characteristics (n=142)

| Variables | No. of patients (%) |
|---|---|
| PSA(ng/ml) | |
| < 4 | 7 (4.9) |
| 4-10 | 47 (33.0) |
| 10-20 | 35 (24.6) |
| > 20 | 53 (37.3) |
| Gleasonscore(preop.) | |
| non-available | 4 (2.8) |
| 2-6 | 63 (44.4) |
| 7 | 40 (28.2) |
| 8-10 | 35 (24.6) |
| Clinicalstage | |
| cT1N0M0 | 17 (11.9) |
| cT2N0M0 | 80 (56.3) |
| cT3N0M0 | 30 (21.1) |
| cT4N0M0 | 0 (0) |
| LN+ or M1 | 3(2.1) |
| HRPCa | 12(10.5) |
| Treatment | |
| RP | 84 (59.1) |
| NHT+RP | 38 (26.7) |
| Hormonal Therapy | 3(2.1) |
| Chemotherapy | 15(10.6) |
| RT | 1(0.7) |
| Others | 1(0.7) |

HRPCa, hormone-refractory prostate cancer; RP, radical prostatectomy; NHT, neoadjuvant hormonal therapy; RT, radiotherapy

3) 말초혈액에서의 RT-PCR 결과

142명의 대상 환자 중에 PSA는 13명 (8.5%), PSCA는 18명 (12.7%), PSMA는 16명 (11.3%), 그리고 kallikrein은 4명 (2.8%)에서 RT-PCR 양성 소견을 보여 4가지 중에 한 개라도 양성인 RT-PCR overall positivity가 40명 (28.2%)으로 확인되었다 (Table 2).

Table 2. Patients characteristics (n=142)

| Variables | No | PSA(+) n=13(8.5%) | PSCA(+) n=18(12.7%) | PSMA(+) n=16(11.3%) | kallikrein(+) n=4(2.8%) | overall(+) n=40(28.2%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| PSA(ng/ml) | | | | | | |
| < 4 | 7 | 1(14.3) | 1(14.3) | 0(0) | 0(0) | 2(28.6) |
| 4-10 | 47 | 8(17.0) | 8(17.0) | 7(14.9) | 1(2.1) | 17(36.2) |
| 10-20 | 35 | 0(0) | 4(11.4) | 3(8.6) | 3(8.6) | 8(22.9) |
| > 20 | 53 | 4(7.5) | 5(9.4) | 6(11.3) | 0(0) | 13(24.5) |
| Gleason score | | | | | | |
| non-available | 4 | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| 2-6 | 63 | 8(12.7) | 7(11.1) | 8(12.7) | 1(1.6) | 21(33.3) |
| 7 | 40 | 3(7.5) | 7(17.5) | 4(10.0) | 3(7.5) | 11(27.5) |
| 8-10 | 35 | 2(5.7) | 4(11.4) | 4(11.4) | 0(0) | 8(22.9) |
| Clinical stage | | | | | | |
| cT1N0M0 | 17 | 0(0) | 1(5.9) | 1(5.9) | 0(0) | 1(5.9) |
| cT2N0M0 | 80 | 10(12.5) | 9(11.2) | 9(11.2) | 2(2.5) | 23(28.7) |
| cT3N0M0 | 30 | 3(10.0) | 7(23.3) | 6(20.0) | 2(6.6) | 15(50.0) |
| cT4N0M0 | 0 | 0(0) | 0(0) | 0 | 0(0) | 0(0) |
| LN+ or M1 | 3 | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) | 0(0) |
| HRPCa | 12 | 0(0) | 1(8.3) | 0(0) | 0(0) | 1(8.3) |

HRPCa, hormone-refractory prostate cancer

4) 근치적 전립선절제술을 시행 받은 환자에서의 RT-PCR 결과와 임상-병리학적 특성

근치적 전립선절제술을 시행 받은 환자는 122명으로 진단 당시 임상적 병기는 cT1NOMO가 15명 (12.3%), cT2N0M0 병기가 78명 (63.9%)이었으며 전립선 피막 외로의 침윤이 의심되었던 cT3N0M0가 29명 (23.8%)이었다. 술 전 남성 호르몬 차단요법을 시행한 경우가 38명 (31.1%)이었다 (Table 3).

Table 3. Patient characteristics (n=122)

| Variables | No. of patients (%) |
|---|---|
| PSA(ng/ml) | |
| < 4 | 7 (5.7) |
| 4-10 | 45 (36.9) |
| 10-20 | 33 (27.0) |
| > 20 | 37 (30.3) |
| Gleason score(biopsy) | |
| 2-6 | 62 (50.8) |
| 7 | 40 (32.8) |
| 8-10 | 20 (16.4) |
| Clinical stage | |
| cT1N0M0 | 15 (12.3) |
| cT2N0M0 | 78 (63.9) |
| cT3N0M0 | 29 (23.8) |
| cT4N0M0 | 0 (0) |

| | |
|---|---|
| Treatment | |
| RP | 84 (68.9) |
| NHT+RP | 38 (31.1) |

RP, radical prostatectomy; NHT, neoadjuvant hormonal therapy

근치적 전립선절제술을 시행 받은 환자에서 임상-병리학적 특성에 따른 RT-PCR 결과를 살펴보면 PSCA와 PSMA의 양성도는 Gleason score 7이하와 비교하여 Gleason score가 8-10인 경우에서 각각 33.3%, 33.3%으로 높게 나타났으며 RT-PCR overall positivity는 50%으로 Gleason score가 높은 경우 높게 발현되는 경향을 보였다. 또 병리학적 병기와 관련해서는 pT3N0M0에서 34.9%의 RT-PCR overall positivity를 보여 전립선에 국한된 경우보다 높은 경향을 보였다. 정낭을 침윤한 경우에는 PSCA의 양성도가 21.4%으로 침범하지 않은 군의 13.0%에 비해 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다 (Table 4-5).

Table 4. Comparison of RT-PCR positivity with clinicopathologic parameters (n=122)

| Variables | No | PSA(+) n=13(8.5%) | PSCA(+) n=18(12.7%) | PSMA(+) n=16(11.3%) | kallikrein(+) n=4(2.8%) | overall(+) n=40(28.2%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| PSA(ng/ml) | | | | | | |
| < 4 | 7 | 1(14.3) | 1(14.3) | 0(0) | 0(0) | 2(28.6) |
| 4-10 | 45 | 8(17.8) | 8(17.8) | 7(15.6) | 1(2.2) | 17(37.8) |
| 10-20 | 33 | 0(0) | 4(12.1) | 3(9.1) | 3(9.1) | 8(24.2) |
| > 20 | 37 | 4(10.8) | 4(10.8) | 5(12.3) | 0(0) | 11(29.7) |
| Gleason score | | | | | | |
| non-available | 31 | 4(12.9) | 4(12.9) | 4(12.9) | 2(6.5) | 8(25.8) |
| 2-6 | 36 | 4(11.1) | 6(16.7) | 5(13.9) | 0(0) | 12(33.3) |
| 7 | 49 | 5(10.2) | 5(10.2) | 4(8.2) | 2(4.1) | 15(30.6) |
| 8-10 | 6 | 0(0) | 2(33.3) | 2(33.3) | 0(0) | 3(50.0) |
| Path. stage | | | | | | |
| pT0N0M0 | 4 | 0(0) | 1(25.0) | 1(25.0) | 0(0) | 1(25.0) |
| pT2N0M0 | 74 | 10(13.5) | 9(12.2) | 8(10.8) | 2(2.7) | 22(29.7) |
| pT3N0M0 | 43 | 3(7.0) | 7(16.3) | 6(14.0) | 2(4.7) | 15(34.9) |
| pT4N0M0 | 1 | 0(0) | 0(0) | 1(100) | 0(0) | 0(0) |
| Surgical margin | | | | | | |
| + | 29 | 3(10.3) | 4(13.8) | 5(17.2) | 1(3.4) | 11(37.9) |
| - | 93 | 10(10.8) | 13(14.0) | 10(10.8) | 3(3.2) | 27(29.0) |
| LV invasion | | | | | | |
| + | 11 | 1(9.1) | 2(18.2) | 2(18.2) | 0(0) | 4(36.4) |
| - | 111 | 12(10.8) | 15(11.7) | 13(11.7) | 4(3.6) | 34(30.6) |
| SVI | | | | | | |
| + | 14 | 1(7.1) | 3(21.4) | 2(14.3) | 0(0) | 5(35.7) |
| - | 108 | 12(11.1) | 14(13.0) | 13(12.0) | 4(3.7) | 33(30.6) |
| NHT | | | | | | |
| + | 38 | 4(10.5) | 7(18.4) | 4(10.5) | 2(5.3) | 10(26.3) |
| - | 84 | 9(10.7) | 10(11.9) | 11(13.1) | 2(2.4) | 28(33.3) |

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

Table 5. Relationship between RT-PCR positivity and clinicopathologic parameters (n=122)

| | PSA(+) | PSCA(+) | PSMA(+) | kallikrein(+) | overall(+) |
|---|---|---|---|---|---|
| serum PSA | 0.092 | 0.814 | 0.617 | 0.160 | 0.634 |
| Gleason score | 0.826 | 0.440 | 0.343 | 0.474 | 0.684 |
| Path. stage | 0.776 | 0.545 | 0.719 | 0.817 | 0.746 |
| SV invasion | 1.000 | 0.412 | 0.682 | 1.000 | 0.762 |
| LV invasion | 1.000 | 0.670 | 0.624 | 1.000 | 0.738 |
| Surgical margin | 1.000 | 1.000 | 0.346 | 1.000 | 0.369 |
| Hormonal therapy | 1.000 | 0.336 | 0.775 | 0.588 | 0.438 |

LV, lymphovascular; SVI, seminal vesicle invasion

5) 전립선 피막 외 침윤의 예측 인자

근치적 전립선절제술을 시행 받은 환자 중 병리학적으로 전립선 피막 외로의 침윤이 확인된 T3 병기 이상의 환자는 44명 (36.1%)으로 이러한 전립선 밖으로의 침윤을 예측하는 인자로는 serum PSA≧20ng/ml, Gleason score≧7, 임상적 병기≧cT3 가 독립적인 예측 인자로 확인되었으며 RT-PCR을 이용한 말초 혈액에서의 표지자의 검출 유무는 유의한 결과를 보이지 않았다 (Table 6-7).

Table 6. Univariate analysis of predicting factors for extraprostatic extension

| | HR | 95%CI | p-value |
|---|---|---|---|
| PSA≧20ng/ml* | 4.767 | 2.087-10.885 | <0.001 |
| Gleason score≧7* | 4.396 | 1.956-9.882 | <0.001 |
| Clinical stage≧cT3* | 3.853 | 1.615-9.194 | 0.002 |
| RT-PCR | | | |
| PSA(+) | 0.831 | 0.240-2.876 | 0.770 |
| PSCA(+) | 1.400 | 0.491-3.991 | 0.529 |
| PSMA(+) | 1.315 | 0.434-3.982 | 0.628 |
| kallikrein(+) | 1.950 | 0.265-14.360 | 0.512 |
| overall(+) | 1.622 | 0.734-3.585 | 0.232 |

*; P < 0.05

Table 7. Multivariate analysis of predicting factors for extraprostatic extension

| | HR | 95%CI | p-value |
|---|---|---|---|
| PSA≧20ng/ml* | 3.783 | 1.518-9.429 | 0.004 |
| Gleason score≧7* | 2.702 | 1.093-6.678 | 0.031 |
| Clinical stage≧cT3* | 3.008 | 1.138-7.954 | 0.026 |
| RT-PCR overall (+) | 1.878 | 0.749-4.710 | 0.179 |

*, P < 0.05

6) 면역 조직화학 검사(Immunohistochemistry)

적출된 전립선 및 침생검 된 전립선암 조직에서의 AMACR (Alpha-methylacyl-CoA racemase), PSA, PSMA, PSCA, EFGR, 및 bcl-2의 발현을 면역화학 염색을 통하여 확인하였으며 각각의 항체에 대한 양성도는 PSA와 PSMA가 각각 97.6%, 89.6%으로 높게 나왔으며 EGFR과 bcl-2가 각각 32.3%, 17.5%으로 낮게 나타났다.

Table 8. Results of Immunohistochemistry

| Immunohistochemistry | No | Incidence of positive staining (%) |
|---|---|---|
| AMACR | 111 | 82 (73.9) |
| PSA | 85 | 83 (97.6) |
| PSMA | 115 | 103 (89.6) |
| PSCA | 99 | 60 (60.6) |
| EGFR | 99 | 32 (32.3) |
| bcl-2 | 97 | 17 (17.5) |

전립선암 조직에서의 EGFR은 PSA<10ng/ml, PSA 10-20ng/ml, PSA≧20ng/ml 에서 각각 23.1%, 37.5%, 48.3%의 발현을 보여 PSA가 높을수록 발현이 의미 있게 증가하였으며 (P = 0.036) 병리학적 병기와 관련해서는 pT2와 pT3 병기에서 각각 27.0%, 44.1%가 발현하여 병리학적 병기가 높을수록 발현율이 높은 것으로 확인되었다 (P=0.042). 또한 bcl-2의 발현은 pT2와 pT3에서 각각 10.3%, 29.7%가 발현하여 EGFR과 같이 병기가 높을수록 높은 발현을 보였다 (P=0.043). 그 외 조직에서의 AMACR, PSA, PSMA, PSCA의 발현과 serum PSA, Gleason score, pathologic stage 사이에는 발현의 차이를 보이지 않았다.

Table 9. Comparison of immunohistochemical results with clinicopathologic parameters

| Variables | AMACR | | PSA | | PSMA | | PSCA | | EGFR | | bcl-2 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | + | − | + | − | + | − | + | − | + | − | + | − |
| | n=82 | n=29 | n=83 | n=2 | n=103 | n=12 | n=60 | n=39 | n=32 | n=67 | n=17 | n=80 |
| PSA(ng/ml) | | | | | | | | | | | | |
| < 4 | 6(85.7) | 1(14.30 | 6(100) | 0(0) | 5(71.4) | 2(28.6) | 6(85.7) | 1(14.3) | 0(0) | 7(100) | 1(14.3) | 6(85.7) |
| 4-10 | 32(74.4) | 11(25.6) | 28(96.6) | 1(3.4) | 37(86.0) | 6(14.0) | 19(50.0) | 19(50.0) | 9(23.1) | 30(76.9) | 4(10.8) | 33(89.2) |
| 10-20 | 23(79.3) | 6(20.7) | 24(100) | 0(0) | 30(96.8) | 1(3.2) | 13(54.2) | 11(45.8) | 9(37.5)* | 15(62.5) | 5(21.7) | 18(78.3) |
| > 20 | 21(65.6) | 11(34.4) | 25(96.2) | 1(3.8) | 31(91.2) | 3(8.8) | 22(73.3) | 8(26.7) | 14(48.3)* | 15(51.7) | 7(23.3) | 23(76.7) |
| Gleason score | | | | | | | | | | | | |
| 2-6 | 45(80.4) | 11(19.6) | 40(95.2) | 2(4.8) | 54(91.5) | 5(8.5) | 27(54.0) | 23(46.0) | 13(25.2) | 38(74.5) | 7(13.5) | 45(86.5) |
| 7-10 | 37(67.3) | 18(32.7) | 43(100) | 0(0) | 49(87.5) | 7(12.5) | 33(67.3) | 16(32.7) | 19(39.6) | 29(60.4) | 0(0) | 35(77.8) |
| Path. stage | | | | | | | | | | | | |
| pT0N0M0 | 0(0) | 2(100) | 2(100) | 0(0) | 2(50.0) | 2(50.0) | 0(0) | 1(100) | 0(0) | 1(100) | 0(0) | 2(100) |
| pT2N0M0 | 49(73.1) | 18(26.9) | 50(96.2) | 2(3.8) | 62(89.2) | 7(10.1) | 33(54.1) | 28(45.9) | 17(27.0) | 46(73.0) | 6(10.3) | 52(89.7) |
| pT3N0M0 | 32(78.0) | 9(22.0) | 30(100) | 0(0) | 38(92.7) | 3(7.3) | 26(72.2) | 10(27.8) | 15(44.1)* | 19(55.9) | 11(29.7)* | 26(70.3) |

| | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| pT4N0M0 | 1(100) | 0(0) | 1(100) | 0(0) | 1(100) | 0(0) | 1(100) | 0(0) | 0(0) | 1(100) | 0(0) | 0(0) |

*, $P < 0.05$

7) 근치적 전립선절제술 후 생화학적 재발의 예측인자

근치적 전립선 절제술을 시행 받은 환자 122명 중 술 후 1개월 이상의 관찰 기간을 가지고 종양의 재발을 진단하기 위한 혈청 PSA 검사를 1회 이상 시행한 환자 119명을 대상으로 생화학적 재발을 확인하였다. 119명의 중간 관찰 기간은 16.9개월 (1-33개월) 으로 관찰기간 동안 16명 (13.1%)에서 생화학적 재발이 발생하였다. 단변량 회귀분석을 통해 PSA≧20ng/ml, Gleason score≧7, 정낭 침윤, RT-PCR PSCA(+), RT-PCR overall(+)이 근치적 전립선절제술 후 생화학적 재발에 대한 예측 인자로 확인되었으며 (Table 10) 이 중 정낭 침윤과 RT-PCR PSCA(+)는 독립적인 예측인자로 확인하였다 (Table 11). 또한 Kaplan-meier 분석을 통해 말초 혈액에서의 RT-PCR 결과에 따른 생화학적 재발은 PSCA (+)과 overall(+) 경우 수술 후 조기 생화학적 재발이 높게 발생하는 것을 확인하였다 (Figure 5, log rank $P<0.05$).

Table 10. Univariate analysis of prognostic factors for biochemical recurrence following RRP (n=119)

| Variables | HR | 95%CI | p-value |
|---|---|---|---|
| PSA≧20ng/ml* | 3.73 | 1.19-11.64 | 0.02 |
| Gleason score≧7* | 6.74 | 1.49-30.45 | 0.01 |
| LVI | 1.778 | 0.394-8.026 | 0.45 |
| Margin | 0.577 | 0.155-2.147 | 0.41 |
| SVI* | 10.90 | 3.64-32.68 | <0.01 |
| RT-PCR | | | |
| PSA(+) | 0.855 | 0.11-6.59 | 0.881 |
| PSCA(+)* | 3.64 | 1.11-11.91 | 0.03 |
| PSMA(+) | 2.51 | 0.77-8.18 | 0.12 |
| Overall(+)* | 3.598 | 1.21-10.73 | 0.02 |

*, $P < 0.05$; LV, lymphovascular; SVI, seminal vesicle invasion

Table 11. Multivariate analysis of prognostic factors for biochemical recurrence following RRP (n=119)

| | HR | 95%CI | p-value |
|---|---|---|---|
| PSA≧20ng/ml | 3.247 | 0.65-16.11 | 0.15 |
| Gleason score≧7 | 1.904 | 0.33-10.82 | 0.46 |
| SVI* | 8.137 | 1.91-34.52 | <0.01 |
| RT-PCR PSCA(+)* | 11.96 | 1.33-107.38 | 0.02 |
| RT-PCR overall(+) | 0.782 | 0.16-3.66 | 0.75 |

*, $P < 0.05$; SVI, seminal vesicle invasion

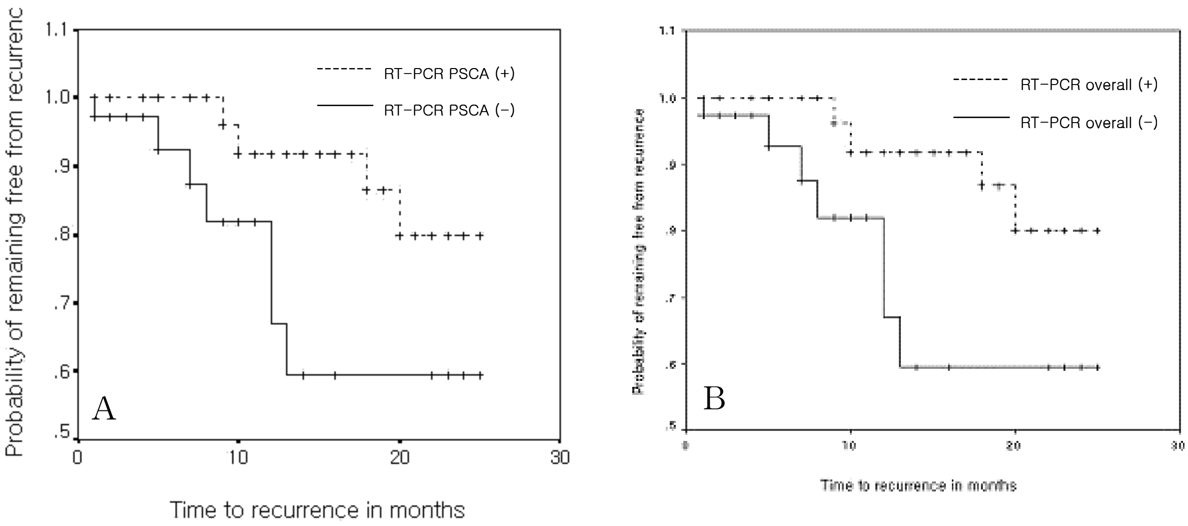
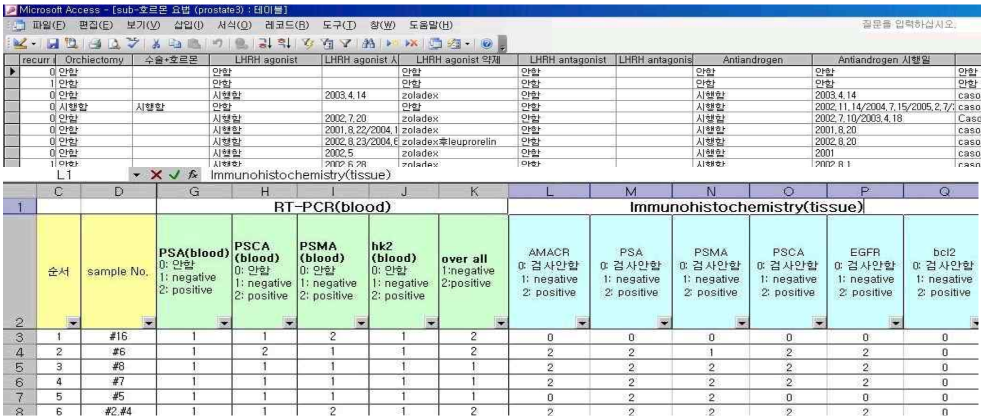



Figure 5. Kaplan-Meier estimates of likelihood of remaining free of biochemical recurrence as related RT-PCR PSCA positivity (A) and RT-PCR overall positivity (B)

8) 전립선암 환자의 임상 DB의 지속적인 UPDATE

본 연구의 1차년도인 2005년에 전립선암 환자의 임상 자료를 MS-ACCESS와 MS-EXCEL 프로그램을 이용하여 임상 DB를 구축하였으며 이 후 세부 항목의 추가와 전립선암 환자의 조직 및 혈액을 보관함으로써 연속적인 임상연구 및 기초연구의 유용한 자료로 이용 가능하게 되었다.




| recurr | Orchiectomy | 수술+호르몬 | LHRH agonist | LHRH agonist 시 | LHRH agonist 약제 | LHRH antagonist | LHRH antagonis | Antiandrogen | Antiandrogen 시행일 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 안함 | | 안함 | | 안함 | 안함 | | 안함 | 안함 | 안함 |
| 1 | 안함 | | 안함 | | 안함 | 안함 | | 안함 | 안함 | 안함 |
| 0 | 안함 | | 시행함 | 2003.4.14 | zoladex | 안함 | | 시행함 | 2003.4.14 | caso |
| 0 | 시행함 | 시행함 | 안함 | | 안함 | 안함 | | 시행함 | 2002.11.14/2004.7.15/2005.2.7/ | caso |
| 0 | 안함 | | 시행함 | 2002.7.20 | zoladex | 안함 | | 시행함 | 2002.7.10/2003.4.18 | Caso |
| 0 | 안함 | | 시행함 | 2001.8.22/2004.1 | zoladex | 안함 | | 시행함 | 2001.8.20 | caso |
| 0 | 안함 | | 시행함 | 2002.8.23/2004.6 | zoladex후leuprorelin | 안함 | | 시행함 | 2002.8.20 | caso |
| 0 | 안함 | | 시행함 | 2002.5 | zoladex | 안함 | | 시행함 | 2001 | caso |
| 1 | 안함 | | 시행함 | 2002.6.28 | zoladex | 안함 | | 시행함 | 2002.8.1 | caso |

| | C | D | G | H | I | J | K | L | M | N | O | P | Q |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | | | RT-PCR(blood) | | | | | Immunohistochemistry(tissue) | | | | | |
| 2 | 순서 | sample No. | PSA(blood) 0: 안함 1: negative 2: positive | PSCA (blood) 0: 안함 1: negative 2: positive | PSMA (blood) 0: 안함 1: negative 2: positive | hk2 (blood) 0: 안함 1: negative 2: positive | over all 1:negative 2:positive | AMACR 0: 검사안함 1: negative 2: positive | PSA 0: 검사안함 1: negative 2: positive | PSMA 0: 검사안함 1: negative 2: positive | PSCA 0: 검사안함 1: negative 2: positive | EGFR 0: 검사안함 1: negative 2: positive | bcl2 0: 검사안함 1: negative 2: positive |
| 3 | 1 | #16 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 2 | #6 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 2 | 0 |
| 5 | 3 | #8 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 |
| 6 | 4 | #7 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 |
| 7 | 5 | #5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 6 | #2,#4 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 0 |

Figure 6. National Cancer Center Prostate Cancer DB (MS-ACCESS and MS-EXCEL)

## 3. 연구결과 고찰 및 결론

전립선암은 서구 남성에 있어 가장 흔하게 발생하고 암에 의한 사망 중 2번째 암으로 최근 우리나라에서도 발생 빈도가 급속히 증가하고 있다. 현재 전립선암의 치료 결정에 있어서 가장 중요한 것은 진단 당시의 임상적 병기이며 종양이 전립선 내에만 국한되어 있는 국소 전립선암의 경우에는 완치를 목적으로 근치적 전립선절제술이나 방사선 치료를 표준 치료로 적용하고 있으며 임파선이나 원격 장기의 전이를 동반하는 전이성 전립선암의 경우에는 호르몬 요법을 적용하고 있다. 현재 전립선암을 진단한 후 정확한 병기를 예측하기 위한 방법으로 직장수지검사와 컴퓨터 단층촬영 (Computed Tomography, CT), 자기공명영상 등의 방사선 검사, 뼈동위원소 검사를 이용한 임상적 병기와 진단 당시 환자의 혈중 전립선특이항원, 전립선조직검사의 병리학적 소견(분화도, 종양의 분율) 등을 근거로 전립선암의 임상적 병기를 예측하고 있다. 그러나 이러한 검사들은 전립선 피막외의 미세 침윤, 골반임파절의 및 원격장기의 미세 전이를 진단하는 데에는 한계가 있다.

분자생물학적 병기결정은 전립선암에 특이성을 지니는 생물학적 표지자를 이용하여 조직 및 혈액에서의 표지자의 미세한 발현을 PCR 등의 기법을 이용하여 증폭하여 확인함으로써 전립선암 세포의 존재를 간접적으로 확인하는 방법으로 기존의 병리학적 검사 보다 미세 침윤과 전이 여부를 정확하게 진단하기 위해 연구가 진행되어 왔다. 분자 생물학적 병기와 관련된 초기 연구로 여러 연구자들에 의해 전립선암의 대표적인 표지자인 PSA에 관한 연구에서 RT-PCR을 통한 말초 혈액에서의 PSA mRNA의 검출은 전립선 피막 외의 침윤 및 수술 후 양성 절제면 등과 관련이 있음을 보고하였다. 그러나 RT-PCR을 이용한 PSA의 양성도는 분화도를 포함하는 임상 인자들과는 관련이 없어 전립선암의 병기 결정에 도움이 되지 않는다고 상반된 결과를 보고하는 등 이견이 있어 왔다. PSA를 이외의 PSCA 관련 연구로 혈액 및 조직에서의 PSCA의 발현이 높을수록 전립선암의 분화도가 나쁘며 전립선 밖으로의 침윤 가능성이 높다고 보고되었다. 본 연구에서는 말초 혈액에서의 PSCA와 PSMA의 발현은 분화도가 나쁜 경우에 흔히 확인되었으며 전립선암에 의한 정낭 침윤이 있는 경우에서도 PSCA가 발현율이 높았다. 그러나 전립선 피막 외로의 침윤을 예측하는 부분에 있어서는 serum PSA, Gleason score, 임상적 병기 등이 예측 인자로 확인된 반면 혈액 및 조직에서의 생물학적 표지자의 검출은 연관성을 확인할 수 없었다. 그러나 실제 병리학적 병기 결정을 통해 진단된 국소 전립선암의 경우라도 근치적 치료 후 생화학적 재발이 20-50%가 보고되고 있어 치료 후 전립선암의 예후를 예측하는데 병리학적 병기 결정 또한 한계가 있다. 따라서 분자생물학적 병기결정을 이용하여 국소전립선암 환자에서 전립선 피막 외로의 미세침윤, 임파절 혹은 원격장기의 미세전이를 진단하여 근치적 치료 후의 질병의 경과를 예측할 수 있다면 적절한 1차 치료 방법을 결정하는 데 있어 매우 유용할 것이다. 기존의 한 가지 혹은 두 가지 표지자를 이용하여 연구한 것과는 달리 본 연구에서는 동일 환자에서 PSA, PSMA, PSCA, hK2 등의 4가지 표지자를 함께 분석하였으며 serum PSA, Gleason score, 정낭 침윤 여부 근치적 전립선절제술 후의 재발과 관련된 예후 인자로 확인되었으며 생물학적 표지자

로는 말초 혈액에서의 PSCA의 발현은 독립적인 예측 인자로 나타났다. PSCA는 Ly-6/Thy-1 family의 세포 표면 항원과 관련된 123개의 아미노산으로 이루어진 glycoprotein으로 유전자는 8q24.2에 위치하고 있으며 oncogene으로 잘 알려져 있는 c-myc의 원위부 가까이에 위치하고 있으며 다른 생물학적 표지자에 비해 전립선암에 특이도가 높아 최근에는 항암 효과를 가지는 백신 연구가 관심을 모으고 있다. 본 연구는 이러한 PSCA의 발현이 근치적 치료 후 생화학적 재발을 예측할 수 있는 예후 인자로서 역할을 확인한 측면에서 의의가 있다. 또한 기존의 분자 생물학적 병기 연구들과는 달리 PCR 기법을 이용한 말초 혈액에서의 표지자의 검출 뿐 만 아니라 tissue microarray를 제작하여 면역화학염색을 시행함으로써 조직에서의 발현도 함께 확인함으로써 전립선암의 생물학적 표지자로서의 가치를 더욱 강화하였다.

본 연구는 전립선암의 임상적 특성을 고려할 때 근치적 전립선절제술 후 관찰 기간이 짧아 PSCA를 포함하는 생물학적 표지자의 발현이 장기간의 재발과 생존을 예측할 수 있는 예후 인자로서의 가치를 확인하는 데에는 한계점이 있으나 본 연구를 통해 구축된 전립선암 DB를 이용하여 혈액에서의 생물학적 표지자의 발현과 조직의 면역화학염색을 시행하여 향 후 장기간의 경과 관찰을 통해 더욱 의미 있는 결과를 얻을 것으로 기대한다.

결론적으로 본 연구를 통해 우선, 전립선암 환자의 임상-병리학적 정보, 전립선암 조직, 그리고 혈액을 포함하는 전립선암의 임상 DB를 구축함으로써 지속적인 정보의 축적을 통해 향 후 지속적인 임상 연구 및 기초 연구의 유용한 자료로 이용 가능하게 되었다. 또한 RT-PCR 및 tissue microarray 제작을 통한 면역화학염색을 이용하여 전립선암 환자의 말초 혈액과 조직에서 PSA, PSMA, PSCA, hK2 등의 생물학적 표지자의 발현을 확인하였다. 특히, 혈액에서의 RT-PCR을 이용한 PSCA의 검출은 근치적 전립선절제술 후의 생화학적 재발을 예측하는 독립적인 예후 인자로서 전립선암의 맞춤 치료의 결정에 있어 유용한 인자로 적용 가능하다.

## 4. 연구성과 및 목표달성도

### (1) 연구성과

가. 국내 및 국제 전문학술지 논문 게재 및 신청

| 논문명 | 저자 (저자구분) | 저널명(I.F.) | Vol(No)Page | 구분 | 과제 관련성 |
|---|---|---|---|---|---|
| GIST in ileal neobladder | 교신 | Internal Journal of Urology (0.691) | 2006;13:1451-3 | 국외 SCIE | 중 |
| Clinicopathologic Features of Korean Prostate Adenocarcinoma : Mapping Analysis of 83 Case | 공동 | 대한병리학회지 | 2006:40;204-9 | 국내 | 상 |
| RT-PCR and IHC Studies for Detection of Prostate Stem Cell Antigen | 교신 | International Journal of Urology(0.691) | 2007;14:635-43 | 국외SCIE | 상 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Expression in Prostate Cancer :Potential Value in Molecular Staging of Prostate Cancer | | | | | |
| The Prevalence of High Grade PIN in the Prostate Gland of Korean Men | 교신 | Urology(2.130) | 2007;70:1100-3 | 국외SCI | 중 |
| Factors Influencing Pain during Transrectal Ultrasonography-Guided Prostate Biopsy | 교신 | Prostate Cancer Prostatic Disease(1.810) | Epub ahead of print | 국외SCIE | 중 |
| THE DETECTION RATE OF PROSTATE CANCER ACCORDING TO THE PROSTATE-SPECIFIC ANTIGEN AND DIGITAL RECTAL EXAMINATION IN KOREAN MEN: A NATIONWIDE MULTICENTER STUDY | 교신 | Urology(2.130) | 2007;70;1109-12 | 국외SCI | 중 |
| PKB/Akt inhibits ceramide-induced apoptosis in neuroblastoma cells by blocking apoptosis-inducing factor (AIF) translocation. | 공동 | J Cell Biochem(5.808) | 2007;102:1160-70 | 국외SCI | 중 |
| PERCENT FREE PSA DOES NOT ENHANCE THE SPECIFICITY OF TOTAL PSA FOR THE DETECTION OF PROSTATE CANCER IN KOREAN MEN AGED 50 TO 65 YEARS: A PROSPECTIVE MULTICENTER STUDY | 교신 | Journal of Urology(3.956) | Epub ahead of print | 국외SCI | 중 |
| Methotrexate, vinblastine, doxorubicin and cisplatin combination regimen as salvage chemotherapy for patients with advanced or metastatic transitional cell carcinoma after failure of gemcitabine and cisplatin chemotherapy. | 공동 | Br J Cancer(4.459) | Epub ahead of print | 국외SCI | 중 |
| Identification of Immunohistochemical Factors that Predict the Synchronous or Metachronous Development of Bladder Tumors in Patients with Upper Urinary Tract Tumor | 교신 | Urologia Internationalis(0.709) | accepted | 국외SCIE | 중 |
| Clinical Value of PTEN in Patients with Superficial Bladder Cancer | 교신 | Urologia Internationalis(0.709) | accepted | 국외SCIE | 중 |

※저자구분 : 교신, 제1, 공동
※구분 : 국내, 국내 SCI, 국내 SCIE, 국외, 국외SCI, 국외SCIE 등
※과제관련성 : 상(Acknowledgement 가 있는 경우), 중, 하

나. 국내 및 국제 학술대회 논문 발표

| 논문명 | 저자 | 학술대회명 | 지역 | 과제 관련성 |
|---|---|---|---|---|
| 전립선내 암 병변의 진단 및 위치의 확인에 있어서 11C-Acetate PET/CT의 유용성 | 이강현 | 비뇨기종양학회 | 국내 | 상 |
| 국소 전립선암의 치료로서 저 분할 양성자 치료의 초기 경험 | 이강현 | 비뇨기종양학회 | 국내 | 상 |
| 방광과 요도의 문합 수술 후 요누출의 확인을 위한 검사 방법으로서 컴퓨터 단층 촬영을 이용한 방광조영술의 유용성 | 이강현 | 비뇨기종양학회 | 국내 | 상 |
| 삼형제에서 발생한 가족성 전립선암 | 이강현 | 비뇨기종양학회 | 국내 | 상 |
| 신보조호르몬 요법 후의 No Residual Prostate Cancer (pT0 or pR0) | 이강현 | 비뇨기종양학회 | 국내 | 상 |
| RT-PCR and IHC Studies for Detection of Prostate Stem Cell Antigen Expression in Prostate Cancer :Potential Value in Molecular Staging of Prostate Cancer | 이강현 | American Urology Association | 국외 | 상 |
| Identification of Immunohistochemical Factors that Predict the Synchronous or Metachronous Development of Bladder Cancer in Patients with Upper Urinary Tract Tumors | 이강현 | American Urology Association | 국외 | 중 |
| 전립선암 환자의 말초혈액에서 RT-PCR을 이용한 Prostate Specific Membrane Antigen과 Prostate-specific Antigen의 검출 | 이강현 | 2005년도 제57차 학술대회 | 국내 | 상 |
| 전립선암 환자에서 전립선 줄기세포 항원을 이용한 분자생물학적 병기 | 이강현 | 2005년도 비뇨기종양학회 | 국내 | 상 |
| 전립선암에서 면역화학염색을 이용한 EGFR, PSCA, bcl-2 발현: 생물학적 지표로서의 유용성 | 이강현 | 2006년도 비뇨기종양학회 | 국내 | 상 |
| 전립선암의 치료 | 이강현 | 2006년 대한비뇨기과학회, 인천-경기지회 집담회 | 국내 | 중 |
| RT-PCR and IHC Studies for Detection of Prostate Stem Cell Antigen Expression in Prostate Cancer :Potential Value in Molecular Staging of Prostate Cancer | 이강현 | abstract submission on AUA 2007 | 국외 | 상 |
| EGFR, bcl-2 expression in patients with prostate cancer | 이강현 | SIU 2007 | 국외 | 상 |
| Prostate cancer in Asia | 이강현 | EAU 2006 | 국외 | 상 |

※지역 : 국내, 국외

다. 산업재산권

| 구분 | 특허명 | 출원인 | 출원국 | 출원번호 |
|---|---|---|---|---|
| | | | | |
| | | | | |

※구분 : 발명특허, 실용신안, 의장등록 등

라. 저 서

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

마. 연구성과의 정부정책 기여

| 보고서명 | 정부정책 | 기여내용 |
|---|---|---|
| | | |
| | | |

바. 기타연구성과

## (2) 목표달성도

가. 연구목표의 달성도

| 최종목표 | 연차별목표 | | 달성내용 | 달성도(%) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 연차 | 최종 |
| 전립선 선암환자의 혈액 및 조직에서의 전립선암의 주요 표지자의 발현을 확인하여 전립선암 DB 구축을 통해 얻은 기존의 예후 인자와의 상관관계를 확인하고 임상 경과와 비교하여 재발 및 진행의 예측인자로서의 가치를 검증 | 1차년도 | RT-PCR의 setting (조건확립) | 조건 확립함 | 100 | 100 |
| | | 40례의 환자혈액 채취, RT-PCR 시행, 면역 조직 화학 검사(tissue microarray), 임상정보와의 상관 관계 분석 | 45례의 환자 혈액 채취 및 RT-PCR 시행 | | |
| | 2차년도 | 50례의 환자혈액 채취, RT-PCR 시행, 면역 조직 화학 검사(tissue microarray), 임상정보와의 상관 관계 분석 | 54례의 환자 혈액 채취 및 RT-PCR 시행, 대상 환자의 면역 조직 화학 검사 시행 및 tissue microarray 제작 완료<br>임상정보와의 상관 관계를 분석하여 초기 결과를 보고 | 100 | 100 |
| | 3차년도 | 60례의 환자혈액 채취, RT-PCR 시행, 면역 조직 화학 검사(tissue | 전체 160례의 환자의 혈액을 채취, RT-PCR 및 면역 조직 화학 검사 시행, 임상 정보와의 상관 관계를 분석하여 결과 발표 | 100 | 100 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | microarray), 임상정보와의 상관관계 분석, 치료 후 예후 예측인자로서의 가치를 검증 | | | |

나. 평가의 착안점에 따른 목표달성도에 대한 자체평가

| 평가의 착안점 | 자 체 평 가 |
|---|---|
| 목표한 검체수에 대한 RT-PCR | 목표한 검체수에 대한 RT-PCR을 초과 달성함 |
| 목표한 검체수에 대한 면역조직화학검사 | 목표한 검체수에 대한 면역조직화학검사를 초과 달성 |
| 임상 DB 개발 및 구축 | 임상 DB 개발 구축 완성하고 지속적 UPDATE |
| 조직 및 혈액에서의 생물학적 표지자의 발현과 임상정보와의 상관관계 확인 및 예후 예측인자로서의 유용성 검증 | 임상정보와의 상관관계를 분석하였고 근치적 치료 후 재발의 예후 인자로서의 유용성 확인 |

## 5. 연구결과의 활용계획

### (1) 연구종료 2년후 예상 연구성과

| 구 분 | 건 수 | 비 고 |
|---|---|---|
| 학술지 논문 게재 | 5 | Urology(IF 2.130), BJU Int(IF 2.635), Journal of Urology(IF 3.956) |
| 산업재산권 등록 | | 특허 등록 예상 국가, 예상 특허명 등 |
| 기 타 | | 전립선암 DB 500 건 구축 완료, 300례 이상의 전립선암 혈액 및 조직 은행 구축 |

### (2) 연구성과의 활용계획

국소 전립선암에서 치료 방법을 결정하는데 있어 기존의 예후 인자인 임상적 병기, serum PSA, Gleason score 외에 PSCA를 포함하는 생물학적 표지자의 발현을 확인하여 국소 치료 후 재발의 위험성을 예측함으로써 적절한 일차 치료방법을 선택하고 재발을 최소화하기 위한 추가 병용 치

료를 적용하는데 도움을 얻을 수 있다. 반면에 국소 치료를 하더라도 재발의 위험성이 매우 높은 경우에는 불필요하고 침습적인 일차 치료를 피하고 다른 방법의 적절한 치료를 권유할 수 있는 맞춤 치료의 시행에 도움을 받을 수 있다.

본 연구의 제한점으로는 전립선암의 임상적 특성을 고려할 때 근치적 전립선절제술 후 암의 재발의 관찰 기간이 짧아 분자 생물학적 병기의 유용성을 확인하는 데에는 한계점이 있어 향 후 지속적인 임상적 관찰이 요구되며 RT-PCR 시행 중의 오염으로 인한 결과의 오류 및 정성적 분석의 한계를 고려할 때 정량적 분석으로 정확한 발현 여부를 확인 할 수 있는 real-time PCR을 이용한 추가 연구가 필요하다. 본 연구에서 유용성이 확인된 PSCA를 포함하는 대표적인 생물학적 표지자를 이용하여 최근 관심이 되고 있는 고위험군 전립선암 환자를 대상으로 하는 추가 연구가 필요하다.

## 6. 참고문헌


Greenlee RT, Murray T, Bolden S, et al. Cancer statistics, 2000. Cancer J Clin. 2000; 50: 7-33.

Park SK, Sakoda LC, Kang D, et al. Rising prostate cancer rates in south Korea. Prostate. 2006; 66: 1285-91.

Mejean A, Vona G, Nalpas B, et al.Detection of circulating prostate derived cells in patients with prostate adenocarcinoma in an independent risk factor for tumor recurrence. J Urol. 2000; 163: 2022-9.

Hara N, Kasahara T, Kawasaki T, et al.Reverse transcription-polymerase chain reaction detection of prostate-specific antigen, prostate-specific membrane antigen, and prostate stem cell antigen in one milliliter of peripheral blood: value for the staging of prostate cancer. Clin Cancer Res. 2002; 8: 1794-9.

Zippelius A, Pantel K. RT-PCR-based detection of occult disseminated tumor cells in peripheral blood and bone marrow of patients with solid tumors. An overview. Ann N Y Acad Sci. 2000; 906: 110-23.

Vessella RL, Riley DE, Blouke KA. A sensitive method for detection of a prostate tumor cell marker using the polymerase chain reaction. J Urol. 1992; 148(Suppl) A 441.

Moreno JG, Croce CM, Fischer R, et al. Detection of hematogenous micrometastasis in patients with prostate cancer. Cancer Res. 1992; 52: 6110-2.

Han Chung, Sang Hyeon Cheon, Choung-Soo Kim. The role of PSA-mRNA RT-PCR in molecular staging of prostate cancer. Korean J Urol. 1990; 40: 1137-44.

Katz AE, Olsson CA, Raffo AJ, et al. Molecular staging of prostate cancer with the use of an enhanced reverse transcriptase-PCR assay. Urology. 1994; 43: 765-75.

Sokoloff MH, Tso CL, Kaboo R, et al. Quantitative polymerase chain reaction does not improve preoperative prostate cancer staging: a clinicopathological molecular analysis of 121 patients. J Urol. 1996; 156: 1560-6.
Su SL, Boynton AL, Holmes EH, et al.Detection of extraprostatic prostate cells utilizing reverse transcription-polymerase chain reaction. Semin Surg Oncol. 2000; 18: 17-28.
Olsson CA, de Vries GM, Buttyan R, et al.Reverse transcriptase-polymerase chain reaction assays for prostate cancer. Urol Clin North Am. 1997; 24: 367-78.
De la Taille A, Olsson CA, Buttyan R, et al. Blood-basedreverse transcriptase polymerase chain reaction assays for prostatic specific antigen: long term follow-up confirms the potential utility of this assay in identifying patients more likely to have biochemical recurrence (rising PSA) following radical prostatectomy. Int J Cancer. 1999; 84: 360-4.
Bup Wan Kim, Soon Weon Kwen, Sae Kook Chang, et al.Molecular staging of micrometastasis in prostate cancer using RT-PCR. Korean J Urol. 1999; 40: 41-6.
Reiter RE, Gu Z, Watabe T, et al. Prostate stem cellantigen: a cell surface marker overexpressed in prostate cancer. Proc Natl Acad Sci USA. 1998; 95: 1735-40.
Saffran DC, Raitano AB, Hubert RS, et al.Anti-PSCA mAbs inhibit tumor growth and metastasis formation and prolong the survival of mice bearing human prostate cancer xenografts. Proc Natl Acad Sci USA. 2001; 98: 2568.
Gu Z, Thomas G, Yamashiro J, et al.Prostate stem cell antigen (PSCA) expression increases with high gleason score, advanced stage and bone metastasis in prostate cancer. Oncogene. 2000; 19: 1288.
Noda S, Kosugi A, Saitoh S, et al.Protection from anti-TCR/CD3-induced apoptosis in immature thymocytes by a signal through thymic shared antigen-1/stem cell antigen-2. J Exp Med. 1996; 185: 2355-60.
Jenkins RB, Qian J, Lieber MM, et al.Detection of c-myc oncogene amplification and chromosomal anomalies in metastatic prostatic carcinoma by fluorescence in situ hybridization. Cancer Res. 1997; 57: 524.
Cunha AC, Weigle B, Kiessling A, et al. Tissue-specificity of prostate specific antigens: Comparative analysis of transcript levels in prostate and non-prostatic tissues. Cancer Lette. 2006; 236: 229-38.
Gu Z, Thomas G, Yamashiro J, et al. Prostate stem cell antigen (PSCA) expression increase with high gleason score, advanced stage and bone metastasis in prostate cancer. Oncogene. 2000; 19: 1288-96.
Gao CL, Dean RC, Pinto A, et al. Detection of circulating prostate specific antigen expression prostatic cells in the bone marrow of radical prostatectomy patients by

sensitive reverse transcriptase polymerase chain reaction. J Urol. 1999; 161: 1070-6.
Oefelein MG, Ignatoff JM, Clemens JQ, et al. Clinical and molecular followup after radical retropubic prostatectomy. J Urol. 1999; 162: 307-11.
Zhigang Z, Wenlu S. Complete androgen ablation suppresses prostate stem cell antigen (PSCA) mRNA expression in human prostate carcinoma. Prostate. 2005; 65: 299-305.
Jain A, Lam A, Vivanco I, et al. Identification of an androgen-dependent enhancer within the prostate stem cell antigen. Mol Endocrinol. 2002; 16: 2323-37.
Watabe T, Lin M, Donjacour AA, et al.Growth, regeneration, and tumorigenesis of the prostate activates the PSCA promotor. Proc Natl Acad Sci USA. 2002; 99: 401-6.
Joung JY, Yang SO, Jeong IG. Reverse transcriptase-polymerase reaction and immunohistochemical studies for detection of prostate stem cell antigen expression in prostate cancer: potential value in molecular staging of prostate cancer. Int J Urol. 2007; 14: 635-43.

## 7. 첨부서류