

기관고유연구사업 결과보고서

편집순서 1 : 겉표지 (앞면)

(과제번호 : 0710411-1 )

위암의 전이에서 키모카인의 역할

The role of chemokine systems  
in gastric cancer metastasis

과제책임자 : 이 준 호

국 립 암 셴 터

편집순서 1 : 겉표지 (측면, 뒷면)

(뒷면)

(측면)

|   |   |
|---|---|
| <div data-bbox="250 1142 1125 1704" data-label="List-Group"><ol style="list-style-type: none"><li>1. 이 보고서는 국립암센터 기관고유연구사업 결과보고서입니다.</li><li>2. 이 보고서 내용을 인용할 때에는 반드시 국립암센터 연구사업 결과임을 밝혀야 합니다.</li></ol><p data-bbox="539 1603 836 1646">(14 pont, 고딕체)</p></div> | <p data-bbox="1204 506 1262 633">↑<br/>5cm<br/>↓</p> <p data-bbox="1204 741 1241 880">과<br/>제<br/>명</p> <p data-bbox="1204 1503 1241 1738">국<br/>립<br/>암<br/>센<br/>터</p> <p data-bbox="1204 1805 1262 1933">↑<br/>3cm<br/>↓</p> |
|---|---|

↑  
6cm  
↓

편집순서 2 : 제출문

## 제 출 문

국립암센터 원장 귀하

이 보고서를 기관고유연구사업 “위암의 전이에서 키모카인의 역할” 과제의  
결과보고서로 제출합니다.

2008. 12. 31

국립암센터

과제책임자 : 이준호

연구원 : 조민정

## 목 차

### < 요약 문 >

(한글)

(영문)

1. 연구사업의 최종목표
2. 연구사업의 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 세부과제 별로 작성함

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

편집순서 4 : 요약문 (한글)

< 요약문 >

|                  |                   |                             |           |                  |
|------------------|-------------------|-----------------------------|-----------|------------------|
| 연구분야(코드)         |                   | 과제번호                        | 0710411-1 |                  |
| 과제명              | 위암의 전이에서 키모카인의 역할 |                             |           |                  |
| 연구기간/연구비<br>(천원) | 합계                | 2007년 1월 1일 ~ 2008년 12월 31일 |           |                  |
|                  | 1차년도              | 2007년 1월 1일 ~ 2007년 12월 31일 |           |                  |
|                  | 2차년도              | 2008년 1월 1일 ~ 2008년 12월 31일 |           |                  |
| 과제책임자            | 성명                | 이준호                         | 주민등록번호    |                  |
|                  | 전화번호              | 031-920-1629                | 전자우편      | kosmas@ncc.re.kr |
| 색인단어             | 국문                | 위암, 전이, 키모카인                |           |                  |
|                  | 영문                |                             |           |                  |

#### ◆ 연구목표

##### <최종목표>

위암의 전이에 작용하는 인자들을 연구하고 이 인자들이 위암의 특정부위 전이와 관련이 있는지 알아봄으로써 전이여부와 예후를 예측

위암환자의 말초혈액에서 발견되는 항혈관생성인자의 농도가 예후를 예측할 수 있는지 알아본다.

##### <당해연도목표>

위암에서 발견되는 chemokine receptor와 galectin을 이용하여 위암의 발암, 진행 및 전이에 관련 기전이 무엇인지 알아본다.

위암환자의 혈청에서 발견되는 항혈관생성인자의 농도와 임상병리학적 인자들과의 관련성을 알아본다.

#### ◆ 연구내용 및 방법

##### -CCR4의 위암세포에서의 발현과 전이 관련 역할 연구

① siRNA 전략 및 유전자 과발현 등의 방법으로 CCR4의 발현을 인위적으로 변화시킨 세포주를 확립. ② migration 및 invasion assay를 통하여 CCR4를 이상 발현시킨 위암세포주 전이 관찰 ③ CCR4의 발현 위암세포주의 adhesion 및 움직임을 confocal microscopy 및 live imaging cell analysis를 이용하여 관찰 ④ CCR4 발현 위암세포주에 CCR4 리간드를 처리한 후 배양액을 얻어 전이 관련인자 (예, MMP-9, MMP-2)를 Zymography 및 western blotting 방법으로 연구 ⑤ CCR4 과발현 위암세포주를 foot-pad 방법으로 쥐에 주입하여 위암의 전이 정도 및 장기 특이적 전이 조사 ⑥ CCR4 리간드의 발현 정도를 장기별로 조사하고 리간드의 발현과 위암의 장기 특이적 전이 조사

##### -CCR10의 위암세포에서의 발현과 전이 관련 역할 연구

CCR4와 동일한 방법으로 CCR10의 역할 연구

##### -위암환자에서 CCR4의 발현과 예후에 관한 연구

① 대상환자와 조직의 보관 - 1년간 위암센터에서 치료받는 모든 진행성 위암환자를 대상으로 동의서에 동의한 환자를 대상으로 확보한 조직은 즉시 동결보관함. ② Laser microdissection, RNA추출과 quantitative RT-PCR - background를 줄이기 위해 동결한 조직을 LM을 통해 원발암 조직만 분리하고 분리한 조직에서 RNA를 추출 ③ 2iCycler iQ Realtime PCR detection System을 이용하여 정량 ④ 각기 다른 2부위에서 채취한 조직과 전이암 조직들의 CCR4도 함께 정량함. ⑤ 면역화학염색-원발암 조직을 수술 후 6시간 이내에 고정된 뒤 CCR4 항체로 염색함.

-⑤ 판독은 환자의 임상양상을 모르는 2명의 병리의사가 함. ⑥ 환자의 추적관찰과 분석 - 위암센터의 추적관찰은 정해진 프로토콜에 따라 행하고 추적관찰은 매 3개월마다 함. ⑦ 통계적인 분석은 SPSS를 이용하여 시행하고 마지막 환자 enroll 3년 후 중간분석을 하며 5년 후 최종분석을 함.

**-위암환자에서 항혈관생성인자의 예후인자에 관한 연구**

① 2008년 4월부터 위선암으로 진단받은 환자 중 3주 이내에 선행화학요법이나 방사선화학요법을 시행 받은 적이 없고 ECOG criteria 상 PS가 0, 1, 2인환자로 적절한 추적관찰이 가능하고 실험내용에 동의서를 작성한 환자 174명에 대해 수술 당일 날 아침 8시, 술 후 일주일, 한달, 3개월, 6개월, 9개월, 12개월 단위로 말초혈액 20cc 채혈함.② 동일한 환자에 대해 수술 중 coronary vein에서 20cc 채혈함 ③ 대조군으로써 위암환자의 가족 중 내시경 검사 상 병변이 없는 건강한 성인 남녀를 대상으로 말초혈액 15cc를 채혈함. ④채혈 된 혈액은 30분간 상온에서 응고시킨 후 2000g, 10분간 원심분리 후 serum을 분리하여 영하 70도에서 분석할 때까지 보관함. ⑤240명 환자의 수술 직전에 채취한 serum과 수술 중에 간문맥에서 채취한 serum, 대조군의 serum으로 ELISA kit를 이용하여 VEGF, Angiopoietin-2, endostatin, Thrombospondin-2, Angiostatin 농도를 측정함. ⑥ 환자군과 대조군, 환자군의 말초혈액과 간문맥에서의 측정치, 환자군의 측정치와 임상양상과를 통계학적인 방법으로 비교분석함.

**◆ 연구성과**

-정량적 성과

| 구분        | 달성치/목표치 <sup>1)</sup> | 달성도(%) |
|-----------|-----------------------|--------|
| SCI 논문 편수 |                       |        |
| IF 합      |                       |        |
| 기타 성과     |                       |        |

1) 총연구기간내 목표 연구성과로 기 제출한 값

-정성적 성과

.

|                                |        |          |
|--------------------------------|--------|----------|
| <b>◆ 참여연구원<br/>(최종연도 참여인원)</b> | 성 명    | 국명철, 조민정 |
|                                | 주민등록번호 |          |

※ 요약문의 총분량은 2page 이내로 제한함

편집순서 5 : 요약문 (영문)

## Project Summary

|                           |  |
|---------------------------|--|
| <b>Title of Project</b>   | The role of chemokine systems in gastric cancer metastasis |
| <b>Key Words</b>          | Gastric cancer, metastasis, chemokine                      |
| <b>Project Leader</b>     | Jun Ho Lee   |
| <b>Associated Company</b> | Myoung Choerl Kook , Min Jung Jo                           |
|                           |  |



※ 연구사업의 목표, 연구방법, 연구성과를 영문으로 요약하여 2쪽이내의 분량으로 작성

## 편집순서 6 : 연구사업결과

### 1. 연구사업의 최종목표

위암의 전이에 작용하는 인자들을 연구하고 이 인자들이 위암의 특정부위 전이와 관련이 있는지 알아봄으로써 전이여부와 예후를 예측

### 2. 연구사업의 내용 및 결과

#### (1) CCR4의 위암세포에서의 발현과 전이 관련 연구

- 각 세포주들(SNU1, SNU5, SNU16, SNU216, SNU484, SNU601, SNU638, SNU668, SNU716, AGS, MKN28, Kato III, YCC2)에서 RNA를 추출하고 cDNA를 제작하여 반정량적인 RT-PCR방법을 통해 CCR4 발현을 분석함.
- Flow cytometry 분석을 하여 각 세포주에서의 CCR4 발현을 확인함.
- 파라핀 블록을 깎아 슬라이드를 제작한 뒤 면역화학염색을 통해 조직에서 CCR4 발현을 검사함.
- BrdU cell proliferation assay를 통해 ligand를 처리했을 때 CCR4 양성 세포주의 증식 여부를 확인함.
- 24-well cell culture chamber를 이용하여 CCR4의 리간드인 CCL17/TARC를 처리한 뒤 migration assay를 수행함.
- 위암센터에서 전향적으로 수집된 753명 위암환자의 파라핀블록을 이용하여 tissue array를 제작한 뒤 면역화학염색을 하여 임상병리학적 인자들, 재발 유무와 배발 부위 등과의 연관성 등을 분석함.
- IRB를 득한 뒤 위암의 전이가 빈번하게 이루어지는 간, 복막, 췌장, 폐, 난소조직을 얻은 뒤 CCR4의 리간드인 CCL17/TARC의 발현 정도를 quantitative RT-PCR 방법을 통해 정량함.

#### (2) CCR5, CCR7, CCR10의 위암세포에서의 발현과 전이 관련 역할 연구

- CCR4을 이용한 실험과 동일 방법으로 실험

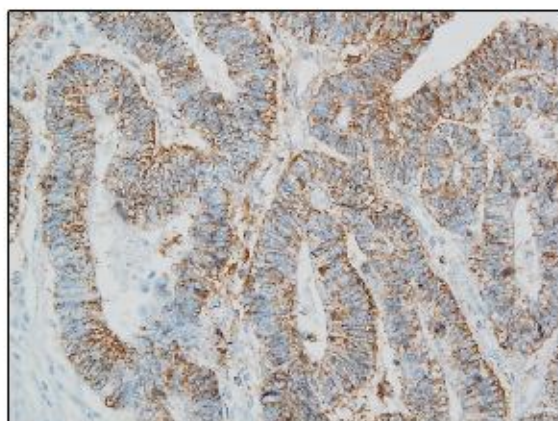
#### (3) 위암환자에서 항혈관생성인자의 예후인자에 관한 연구

- 2006년 4월부터 2006년 10월까지 국립암센터 위암센터 외래를 내원하여 위선암을 진단받고 수술을 받기로 한 환자 중 3주 이내에 선행화학요법이나 방사선화학요법을 시행 받은 적이 없고 ECOG criteria 상 PS가 0, 1, 2인 환자로 적절한 추적관찰이 가능하고 실험내용에 동의서를 작성한 환자 240명을 대상으로 혈액을 채취함.
- 혈액채취는 수술 당일 날 아침 8시, 한달, 3개월, 6개월, 9개월, 12개월 단위로 말초혈액 20cc 채혈하고 동일한 환자에서 수술 중 coronary vein에서 혈액 20cc를 채취함.
- 대조군은 위암센터에서 수술 받은 환자의 가족 중 가족력이 있는 환자 가운데 검진에 동의하고 내시경 상 병변이 없는 성인 남녀 가운데 혈액채취에 동의한 30명을 대상으로 말초혈액 15cc를 채취함.
- 이미 잘 알려진 혈관생성인자 VEGF, Angiopoietin-1과 항혈관생성작용을 하는 Ang-2, 항혈관생성인자인 Endostatin, Thrombospondin-2 및 추가로 Angiostatin 등을 ELISA Kit를 이용하여 농도를 측정함.
- 각 인자들 중에 혈관생성인자(VEGF)와 항혈관생성인자들의 비윤(balance)가 임상병리학적 인자들과 어떠한 상관관계가 있는지를 분석하여 기존에 알려진 임상병리학적 예후인자들과의 관련성 여부를 통해 예후인자로서의 이용가능성 여부를 알아봄. 이 후 5년간의 환자추적관찰을 통해 얻어지는 환자의 생존곡선과의 상관관계를 분석하여 예후와의 관련성을 알아봄.
- 연구에 들어온 환자들의 파라핀 조직을 이용하여 면역화학염색을 시행하여 lymphatic vessel density (LVD)를 측정함.
- 측정된 LVD와 기존에 측정된 인자들과의 관련성을 분석함.

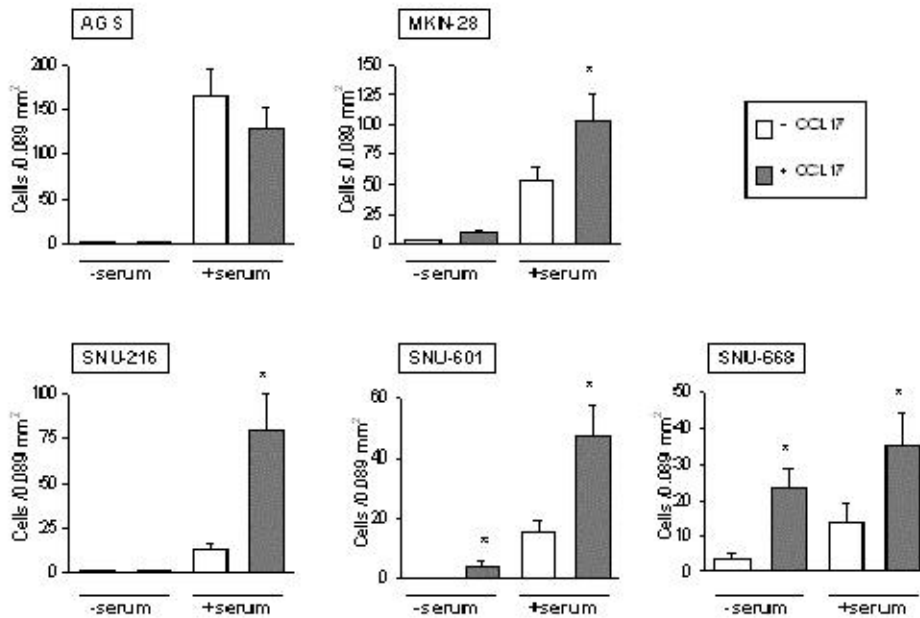
#### (4) CCR4의 위암세포에서의 발현과 전이 관련 연구결과

- CCR4와 CCR7은 모든 세포주에서 발현되었으며 CCR5 CCR6 등이 비교적 빈번하게 발현되었음.
- 면역화학염색 결과 CCR4는 암세포와 림프구를 비롯한 염증세포들에서 발현되는 것을 관찰할 수 있었음. 반면 정상 위점막세포에서는 관찰이 되지 않았으나 일부의 평활근세포와 신경세포에서는 관찰이 되었다. 염색되는 양상은 기존의 보고들에서처럼 세포질에 염색이 되었음 (그림 1).

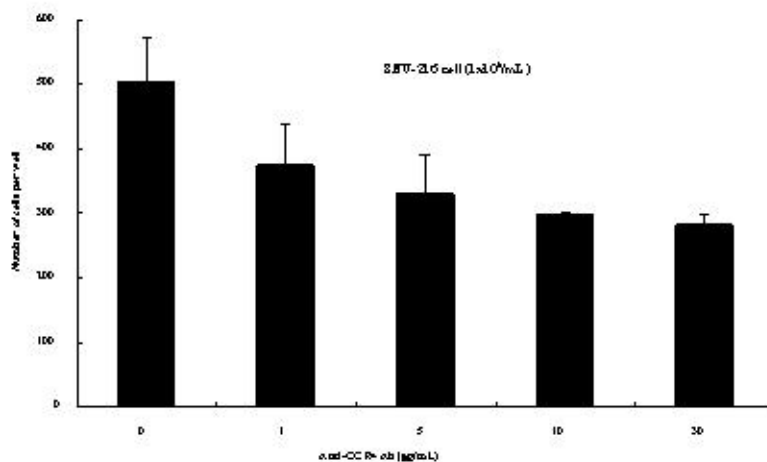
(그림 1) 위암조직의 면역화학염색 소견



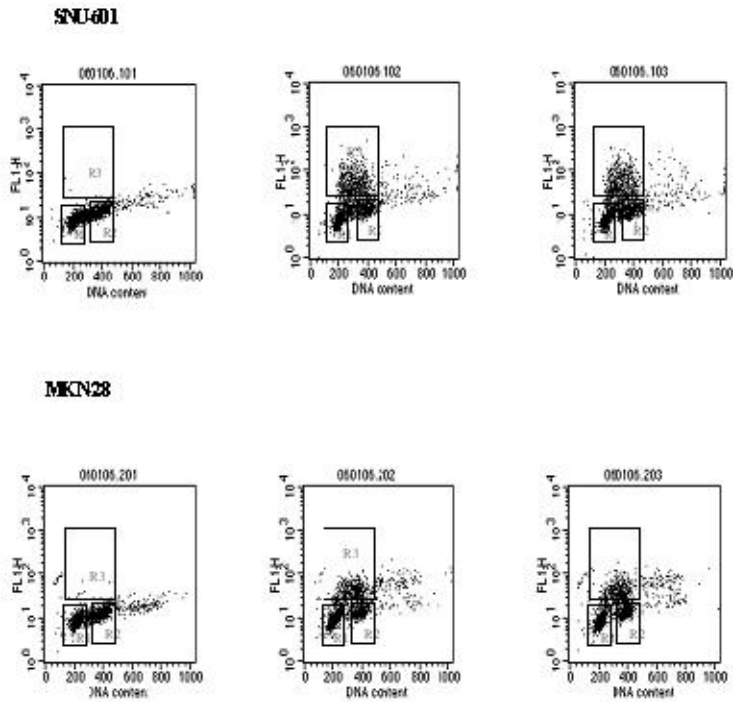
- CCR4에 양성을 보이는 세포주를 이용한 migration assay 결과 ligand에 반응하여 migration이 증가하는 양상을 보였으며(그림 3) 항체를 이용한 억제실험에서 이동이 억제되는 양상을 보였으나(그림 4) proliferation assay 결과는 차이를 보이지 않음(그림 5).



(그림 3) Result of migration assay



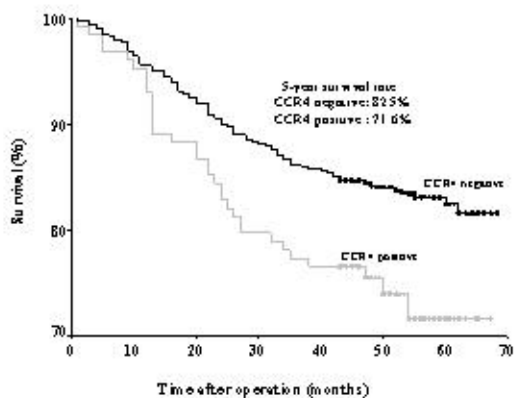
(그림 4) Inhibition of CCR4 using anti-CCR4 antibody



(그림 5) Proliferation assay of CCR4-positive gastric cancer cells.

- CCR4에 양성을 보인 경우는 128명으로 전체의 17.0% 였음. 암의 침윤정도나 림프절 전이나 재발 유무 등에 따라 CCR4 유무에 따라 유의한 차이를 보였으나 전이 양상에 따라서는 차이가 없었음. 다변량 분석에 따르면 CCR4 유무는 통계적으로 유의한 재발의 위험인자는 아니었음. 생존곡선의 경우 CCR4 유무에 따라 유의한 생존율의 차이를 보였음 (그림 6).

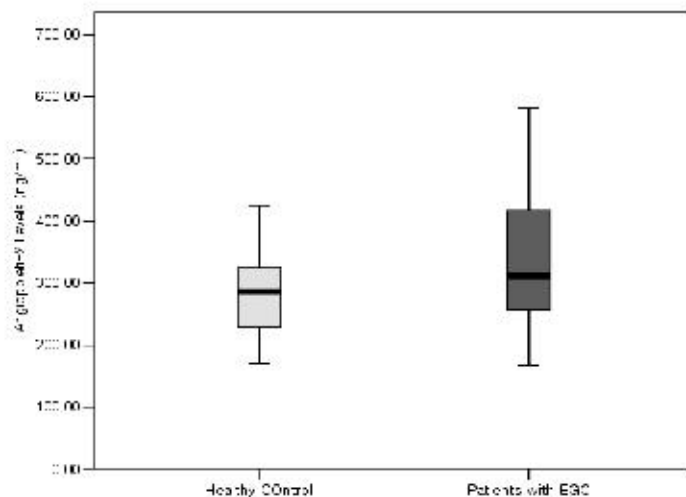
(그림 6) CCR4 발현 유무에 따른 생존곡선



- CCR10의 경우 22명 (2.9%)에서만 양성을 보였으며 재발이나 예후와 상관관계를 보이지 않았다.
- CCR7의 경우 25.7%의 환자에서 양성물질을 보였으나 림프절 전이여부와 상관관계를 보이지 않았고 생존율도 차이를 보이지 않았다(80.1% vs. 78.0%, P=0.584).
- CCR5의 경우 CCR4와 유사하게 ligand에 반응하여 migration은 증가하나 proliferation은 이루어지지 않는 양상을 보였다. 조직에서의 발현은 면역화학염색법으로 양성을 보는데 실패하였다.
- CCR4의 경우 재발양상과 양성율과 차이를 보이지 않아 시행한 간, 복막 등의 ligand 농도 측정에서 조직간의 차이를 보이지 않았음.

#### (5) 위암환자에서 항혈관생성인자의 예후인자에 관한 연구결과

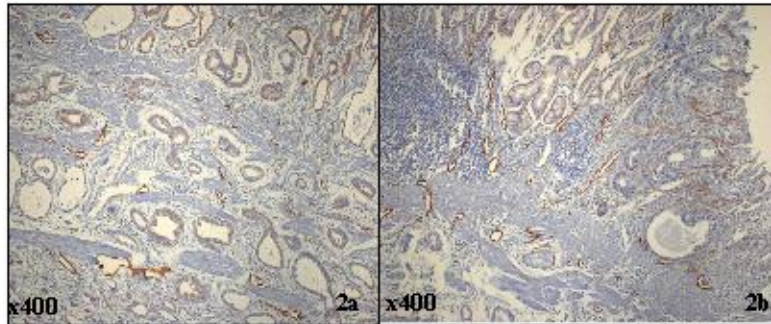
- 240명의 환자 가운데 조기위암환자는 62명이었으며 이들의 결과와 30명의 대조군의 결과를 비교한 결과, angiopoietin-2의 농도가 유의한 차이를 보임(311.1 ng/mL, IQR: 256.7~311.1 versus 286.5 ng/mL, IQR: 226.9~286.5, Mann-Whitney test, P=0.016, 그림 7).



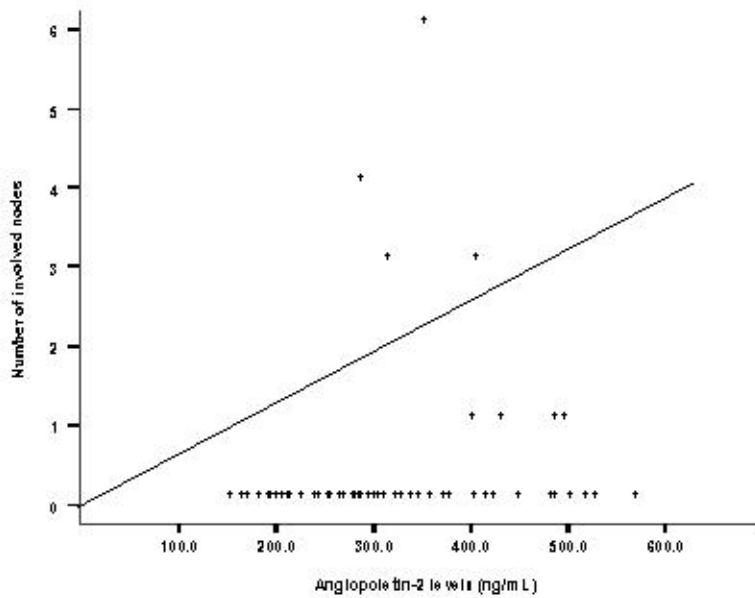
(그림 7) Serum Ang-2 levels of healthy controls and patients with early gastric cancer.

- 림프관을 면역화학염색을 통해 확인한 결과 주위조직에서의 림프관 발현정도보다 종양 내에서의 림프관형성이 더욱 활발히 이루어 있음을 관찰하였다(42.5/m<sup>2</sup>, IQR: 36.6~51.3 versus 57.5/m<sup>2</sup>, IQR: 53.5~63.4, Mann-Whitney test, P<0.00, 그림 8).

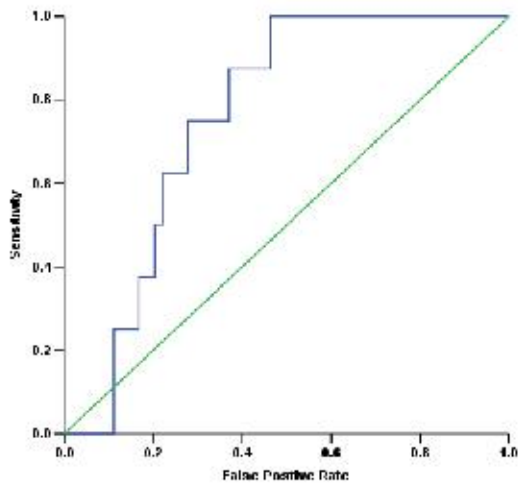
(그림 8) Immunohistochemical staining result of lymphatic vessels



- 조기위암환자에서의 Ang-2 농도는 림프절전이 여부나 전이경도와 밀접한 상관관계를 보였으며 이는 독립인자로 75%의 민감도와 특이도를 보였음(그림 9, 10)



(그림 9) Correlation between Ang-2 levels and the number of involved lymph nodes.



(그림 10) A receiver operating characteristic curve for Ang-2 values in the prediction of lymph node involvement

- Ang-2 농도는 대조군과 조기위암환자에서는 차이를 보인 반면, 조기위암환자와 진행성위암환자 간에는 차이를 보이지 않음.
- 면역화학염색 결과 LVD는 림프절전이여부와 상관관계를 보이지 않았으며 Ang-2나 그 외의 인자들과도 뚜렷한 상관관계를 보이지 않음.
- Ang-2 이외에 Angiostatin의 경우에는 대조군과 위암환자 간에 농도 차이를 보였으나 그 외의 인자들은 뚜렷한 차이를 보이지 않음.

### 3. 연구결과 고찰 및 결론

#### ○ 위암에서의 chemokine과 chemokine receptor

- 위암의 경우 CCR7과 CCL21/6kine이 림프절 전이에 관여하는 기전의 하나로 보고된 바 있으며 CXCR4가 복막전이에 관여한다는 보고가 있으나 그 이후의 후속 연구결과에 대한 보고는 없음.
- 본 연구에서 보인 CCR4의 재발이나 예후와의 상관관계는 위암에서 보고된 바가 없으며 향후 예후인자나 재발을 예측하는데 유용한 지표가 될 수 있을 것으로 기대됨.
- 조직의 CCR4 ligand에 관한 연구에서 보듯 CCR4의 전이나 재발이 기관특이적으로 이루어짐을 보이는데는 실패하였으나 최근 개발되고 있는 키모카인 억제제를 위암환자에서 이용할 수 있다



는 가능성을 제시함.

- CCR7의 경우에는 다른 보고와 달리 림프절 전이와의 연관성을 보이는데 실패하여 원인을 보다 자세히 분석해 볼 필요가 있음.
- CCR5나 CCR10의 경우 CCR4와 in vitro 연구결과는 유사한 양상을 보이거나 조작을 이용한 면화 화학염색 결과는 기대 이하로 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각됨.

#### ○ 위암에서의 항혈관생성인자의 예후인자에 관한 연구

- 위암환자에서 특히 조기위암환자에서 혈청을 이용한 실험 결과 대조군에 비해 차이를 보이는 인자는 보고된 바가 없음. 이는 대단위 연구를 통해 특이도와 민감도를 검증하는 연구가 필요할 것으로 생각됨.
- 비록 영상학적 진단방법과 비슷한 정도의 민감도를 보이기는 했으나 혈청학적 진단방법으로 75% 정도의 중등도의 특이도와 민감도를 보인 연구 결과는 보고된바가 없음. 이는 향후 조기 위암환자의 치료방침을 결정하는데 가장 중요한 림프절 전이의 중요한 예측인자가 될 가능성이 있으며 향후 감시림프절 생검환자에서의 농도측정을 통해 보다 특이적인 감시림프절 생검대상을 찾는 데도 이용 가능할 것으로 생각됨.
- 기존의 보고들과는 달리 혈관생성에 관여하는 것으로 알려진 VEGF, endostatin 등은 다양한 임상병리학적 인자들과 별다른 상관관계를 보이는데 실패하여 원인을 분석중임.
- 환자를 추적관찰하며 얻은 자료들은 재발과의 연관성을 볼 예정이며 향후에 얻어지는 생존자료를 이용하여 예후와의 관련성을 볼 예정임.

## 4. 연구성과 및 목표달성도

### (1) 연구성과

가. 국내 및 국제 전문학술지 논문 게재 및 신청

| 논문명   | 저자<br>(저지구분)                    | 저널명(I.P.)                                | Vol(No)Page | 구분         | 과제<br>관련성 |
|---|---------------------------------|--|-------------|------------|-----------|
| Sentinel node mapping and skip metastases in patients with early gastric cancer | 이상석,<br>이준호(교신<br>저자),<br>류근원 등 | Annals of<br>Surgical<br>Oncology(3,917) | in press    | 국외 SC<br>I | 상         |

|  |                        |                                      |              |        |   |
|--|------------------------|--------------------------------------|--------------|--------|---|
| Feasibility of laparoscopic sentinel basin dissection for limited resection in early gastric cancer                            | 이준호(제1저자), 권근원, 김명철, 등 | Journal of Surgical Oncology(2,384)  | 98/331-335   | 국외 SCI | 중 |
| A phase-II clinical trial of laparoscopy-assisted distal gastrectomy with D2 lymph node dissection for gastric cancer patients | 이준호(제1저자), 권근원, 김영우, 등 | Annals of Surgical Oncology(3,917)   | 14/3148-3153 | 국외 SCI | 중 |
| Decisions for extent of gastric surgery in gastric cancer patients: younger patients require more attention than the elderly   | 이준호(제1저자), 등           | Journal of Surgical Oncology(2,384)  | 95/485-490   | 국외 SCI | 하 |
| Abdominal shape of gastric cancer patients influences short-term surgical outcomes   | 이준호(제1저자), 등           | Annals of Surgical Oncology(3,917)   | 14/1288-1294 | 국외 SCI | 하 |
| Liver lift: A simple suture technique for liver retraction during laparoscopic gastric surgery                                 | 이준호(제1저자), 등           | Journal of Surgical Oncology(2,384)  | 95/83-85     | 국외 SCI | 하 |
| The chemokine receptor, CCR4, is expressed and associated with a poor prognosis in patients with gastric cancer                | 이준호(제1저자), 등           | Annals of Surgery                    | in revision  | 국외 SCI | 상 |
| Preoperative serum angiopoietin-2 levels correlate with lymph node status in patients with early gastric cancer                | 이준호(교신저자), 등           | American Journal of Gastroenterology | under review | 국외 SCI | 상 |

※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 | 과제관련성 |
|---|--------------|---------------------|----|-------|
| The chemokine receptor, CCR4, is expressed and associated with a poor prognosis in patients with gastric cancer | 이준호(제1저자)    | AACR annual meeting | 국외 | 상     |
| Preoperative serum angiopoietin-2 levels correlate with lymph node status in patients with early gastric cancer | 이준호(교신저자), 등 | IASG annual meeting | 국외 | 상     |

※지역 : 국내, 국외

#### 다 산업재산권

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

※구분 : 발명특허, 실용신안, 외장등록 등

라 저 서

| 저서명 | 저자 | 발행기관(발행국, 도시) | 쪽수 | Chapter 제목, 쪽수<br>(공저일 경우) |
|-----|----|---------------|----|----------------------------|
|     |    |               |    |                            |
|     |    |               |    |                            |

마. 연구성과의 정부정책 기여

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

바. 기타연구성과

(2) 목표달성도

가. 연구목표의 달성도

- 사업목표에 대한 달성내용 및 관련분야 기술발전예의 공헌도 등을 기술
- 달성도(%)는 연차별목표대비 당해연도 달성도 및 최종목표대비 당해연도까지의 누적 달성도를 반드시 기입

| 최종목표  | 연차별목표 |   | 달성내용   | 달성도(%) |    |
|---|-------|---|--|--------|----|
|   |       |   |  | 연차     | 최종 |
| 위암의 전이에 작용하는 인자들을 연구하고 이 인자들이 위암의 특정부위 전이와 관련이 있는지 알아봄으로써 전이여부와 예후를 예측<br>위암환자의 말초혈액에서 발견되는 항혈관생성인자 | 1차년도  | CCR4와 CCR10의 위암세포주 전이 촉진 기전 연구                        | - 위선암 환자의 신선조직 확보<br>- 면역화학염색<br>- TMA 결과의 통계적 분석  | 70     | 50 |
|   |       | 위암환자의 혈청에서 발견되는 항혈관생성인자의 농도와 임상병리학적 인자들과의 관련성을 알아본다   | - 240명의 위선암환자 혈액채취<br>- VEGF, Ang-2, endostatin, Thrombospondin-2, Angiostatin에 대한 1차적인 정량, 분석 |        |    |
|   | 2차년도  | 위암에서 발현되는 chemokine receptor 와 galectin을 이용하여 위암의 발암, | - 위선암 환자의 신선조직에 대한 ligand 분석<br>- CCR5, CCR7 및 CCR10에 대한 면역화학염색                                | 90     | 90 |

|                           |  |   |  |  |
|---------------------------|--|---|--|--|
| 의 능도가 예후를 예측할 수 있는지 알아본다. | 진행 및 전이에 관한 기전이 무엇인지 알아본다.                           | - TMA 결과의 통계적 분석 및 논문 제출  |  |  |
|                           | 위암환자의 혈청에서 발견되는 항혈관생성인자의 농도와 임상병리학적 인자들과의 관련성을 알아본다. | - 240명의 위선암환자 혈액채취 완료<br>- VEGF, Ang-2, endostatin, Thrombospondin-2, Angiostatin에 대한 1차적인 정량, 분석<br>- LVD 면역화학 염색 및 측정<br>- 관련 논문 제출 |  |  |
|                           |  |   |  |  |

나. 평가의 착안점에 따른 목표달성도에 대한 자체평가

| 평가의 착안점 | 자 체 평 가  |
|---------|--|
|         | 책임연구자의 변경 및 공동연구과제들과의 통합 등으로 인한 연구내용의 변경 등으로 인해 체계적인 연구가 어려웠음. |
|         |  |

5. 연구결과의 활용계획

(1) 연구종료 2년후 예상 연구성과

|  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>○ 연구종료 2년후까지 연구사업 결과로 발생할 것으로 예상되는 성과, 즉 학술지 게재, 산업재산권 등을 단계별로 다음의 양식에 의거하여 작성함. 학술지 게재는 게재 예상 학술지 명과 Impact Factor 등을 기재함</li> <li>○ 연구사업의 내용이 논문이나 산업재산권과 연결되기 힘든 과제의 경우, 자유 형식으로 예상연구성과 및 활용정도를 기재하되 최대한 계량화할 것</li> </ul> <p>예) DB 몇 건 구축완료, ○○○ 시스템 구축 및 ○○사업 완료</p> |
|--|

| 구 분       | 건 수 | 비 고  |
|-----------|-----|--|
| 학술지 논문 게재 | 4   | Annals of Surgery (7,446)<br>American Journal of gastroenterology (6,101)<br>Gut (10,015)<br>Annals of Surgical Oncology (3,917) |
| 산업재산권 등록  |     | 특허 등록 예상 국가,<br>예상 특허명 등   |
| 기 타       |     |  |

## (2) 연구성과의 활용계획

### 가. 진료적인 측면

- 위암환자에서 전이의 고위험군을 선별하는 표지자를 발견함으로써 이를 이용하여 선별된 환자에서 전신적 항암화학요법시의 약제의 선택에 도움이 될 것으로 기대된다.
- 궁극적으로는 우리나라 위암환자 치료실패의 가장 흔한 원인인 전이에 대한 조기 치료를 통한 생존율 향상이 기대됨.
- 조기위암환자의 치료방침 결정에 가장 중요한 림프절 전이를 보다 정확히 진단함으로써 불필요한 수술을 줄일 수 있을 것으로 기대되며 환자들의 삶의 질 향상에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

### 나. 지식 및 기술적 측면

- 위암의 전이에 관한 기전을 보다 많이 이해함으로써 전이환자에 대한 새로운 진단, 치료법을 개발하게 됨.
- 암의 전이에 대한 분자생물학적, 생화학적 연구로 인하여 이의 치료와 예방에 대한 우수한 bioinformation을 제공할 것이고 긍정적인 결과를 얻는다면 향후 지속적인 연구과제로서의 토대를 마련할 수 있을 것으로 기대됨.
- 림프절 전이에 대한 지속적인 연구를 통해 암의 림프절 전이에 대한 기전을 이해하고 진단 및 치료법 개발에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대됨.

## 6. 참고문헌

1. Shin HR, Ahn YO, Bae JM, et al. Cancer incidence in Korea. Cancer Research and Treatment 2002;34:405-408.

2. Kim JP. Surgical results in gastric cancer. *Semin Surg Oncol* 1993;17:132-138.
3. Siewert JR, Bottcher K, Stein HJ, et al. Relevant prognostic factors in gastric cancer: ten-year results of the German Gastric Cancer Study. *Ann Surg*. 1998;228:449-461.
4. Macdonald JS, Smalley SR, Benedetti J, et al. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *N Engl J Med* 2001;345:725-730.
5. Yoo CH, Noh SH, Shin DW, et al. Recurrence following curative resection for gastric carcinoma. *Br J Surg* 2000;87:236-242.
6. Marrelli D, Roviello F, De Stefano A, et al. Risk factors for liver metastases after curative surgical procedures for gastric cancer: a prospective study of 208 patients treated with surgical resection. *J Am Coll Surg* 2004;198:51-58.
7. Kodera Y, Ito S, Yamamura Y, et al. Follow-up surveillance for recurrence after curative gastric cancer surgery lacks survival benefit. *Ann Surg Oncol* 2003;10:898-902.
8. Nicolson GL, Brunson KW, Fidler IJ. Specificity of arrest, survival, and growth of selected metastatic variant cell lines. *Cancer Res*. 1978;38:4105-4111.
9. Pantel K, Brakenhoff RH. Dissecting the metastatic cascade. *Nat Rev Cancer* 2004;4:448-456.
10. Jawhari A, Jordan S, Poole S, et al. Abnormal immunoreactivity of the E-cadherin-catenin complex in gastric carcinoma: relationship with patient survival. *Gastroenterology* 1997;112:46-54.
11. Yonemura Y, Fujimura T, Ninomiya I, et al. Prediction of peritoneal micrometastasis by peritoneal lavaged cytology and reverse transcriptase-polymerase chain reaction for matrix metalloproteinase-7 mRNA. *Clin Cancer Res* 2001;7:1647-1653.
12. Muller W, Schneiders A, Hommel G, et al. Expression of nm23 in gastric carcinoma: association with tumor progression and poor prognosis. *Cancer* 1998;83:2481-2487.
13. Muller A, Homey B, Soto H, et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001;411:69-75.
14. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2001;12:121-127.
15. Foster SJ, Aked DM, Schroder JM. Acute inflammatory effects of a monocyte-derived neutrophil-activating peptide in rabbit skin. *Immunology* 1989;67:181-183.
16. Constantin G, Majeed M, Giagulli C, et al. Chemokines trigger immediate beta2 integrin affinity and mobility changes: differential regulation and roles in lymphocyte arrest under flow. *Immunity* 2000;13:759-769.
17. Mitchison TJ, Cramer LP. Actin-based cell motility and cell locomotion. *Cell* 1996;84:371-379.
18. Andrew DP, Spellberg JP, Takimoto H, et al. Transendothelial migration and trafficking of leukocytes in LFA-1-deficient mice. *Eur J Immunol* 1998;28:1959-1969.
19. Dellacasagrande J, Schreurs OJ, Hofgaard PO, et al. Liver metastasis of cancer facilitated by chemokine receptor CCR6. *Scand J Immunol* 2003;57:534-544.
20. Ghadjar P, Coupland SE, Na IK, et al. Chemokine receptor CCR6 expression level and liver metastases in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:1910-1916.

21. Su S, Mukaida N, Wang J, et al. Inhibition of immature erythroid progenitor cell proliferation by macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$  by interacting mainly with a C-C chemokine receptor, CCR1, *Blood* 1997;90:605-611.
22. Mashino K, Sadanaga N, Yamaguchi H, et al. Expression of chemokine receptor CCR7 is associated with lymph node metastasis of gastric carcinoma, *Cancer Res*, 2002;62:2937-2944.
23. Yasumoto K, Koizumi K, Kawashima A, et al. Role of the CXCL12/CXCR4 axis in peritoneal carcinomatosis of gastric cancer, *Cancer Res* 2006;66:2181-2187.
24. Chun JH, Kim HK, Kim E, et al. Increased expression of metallothionein is associated with irinotecan resistance in gastric cancer, *Cancer Res* 2004;64:4703-4706.
25. McCarthy JB, Hagen ST, Furcht LT. Human fibronectin contains distinct adhesion- and motility-promoting domains for metastatic melanoma cells, *J Cell Biol* 1986;102:179-188.
26. Zhang H, Li Z, Viklund EK, et al. P21-activated kinase 4 interacts with integrin  $\alpha$  v  $\beta$  5 and regulates  $\alpha$  v  $\beta$  5-mediated cell migration, *J Cell Biol* 2002;158:1287-1297.
27. Bao L, Loda M, Janmey PA, et al. Thymosin  $\beta$  15: a novel regulator of tumor cell motility upregulated in metastatic prostate cancer, *Nat Med* 1996;2:1322-1328.
28. Udayakumar TS, Chen ML, Bair EL, et al. Membrane type-1-matrix metalloproteinase expressed by prostate carcinoma cells cleaves human laminin-5  $\beta$ 3 chain and induces cell migration, *Cancer Res* 2003;63:2292-2299.
29. Azuma H, Ehata S, Miyazaki H, et al. Effect of Smad7 expression on metastasis of mouse mammary carcinoma JyMC(A) cells, *J Natl Cancer Inst* 2005;97:1734-1746.
30. Mori M, Mimori K, Shiraishi T, et al. Analysis of MT1-MMP and MMP2 expression in human gastric Cancers, *Int J Cancer* 1997;74:316-321.
31. Mori M, Mimori K, Shiraishi T, et al. p27 expression and gastric carcinoma, *Nat Med* 1997;3:593.
32. Sokobe M, Hawighorst T, Jackson DG, et al. Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis, *Nat Med* 2001;7:192-198.
33. Staller P, Sulitkova J, Lisztwan J, et al. Chemokine receptor CXCR4 downregulated by von Hippel-Lindau tumor suppressor pVHL, *Nature* 2003;425:307-311.
34. McGrath KE, Koniski AD, Maltby KM, et al. Embryonic expression and function of the chemokine SDF-1 and its receptor, CXCR4, *Dev Biol* 1999;213:442-456.
35. Ohshima K, Tutiya T, Yamaguchi T, et al. Infiltration of Th1 and Th2 lymphocytes around Hodgkin and Reed-Sternberg (H&RS) cells in Hodgkin disease: Relation with expression of CXC and CC chemokines on H&RS cells, *Int J Cancer* 2002;98:567-572.
36. van den Berg A, Visser L, Poppema S. High expression of the CC chemokine TARC in Reed-Sternberg cells. A possible explanation for the characteristic T-cell infiltrate in Hodgkin's lymphoma, *Am J Pathol* 1999;154:1685-1691.
37. Ishida T, Iida S, Akatsuka Y, et al. The CC chemokine receptor 4 as a novel specific molecular target for immunotherapy in adult T-Cell leukemia/lymphoma, *Clin Cancer Res* 2004;10:7529-7539.
38. Kim EJ, Hess S, Richardson SK, et al. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma, *J Clin Invest* 2005;115:798-812.

39. Ghia P, Strola G, Granziero L, et al. Chronic lymphocytic leukemia B cells are endowed with the capacity to attract CD4+, CD40L+ T cells by producing CCL22. *Eur J Immunol* 2002;32:1403-1413.
40. Yoshie O, Fujisawa R, Nakayama T. Frequent expression of CCR4 in adult T-cell leukemia and human T-cell leukemia virus type 1-transformed T cells. *Blood* 2002;99:1505-1511.
41. Broxmeyer HE, Orschell CM, Clapp DW, et al. Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. *J Exp Med* 2005;201:1307-1318.
42. Steffens S, Veillard NR, Arnaud C, et al. Low dose oral cannabinoid therapy reduces progression of atherosclerosis in mice. *Nature* 2005;434:782-786.
43. Seto Y, Yamaguchi H, Shimoyama S, et al. Result of local resection with regional lymphadenectomy for early gastric cancer. *Am J Surg* 2001;182:498-501.
44. Soetikno R, Kaltenbach T, Yeh R, Gotoda T. Endoscopic mucosal resection for early cancers of the upper gastrointestinal tract. *J Clin Oncol* 2005; 23:4490-4498.
45. Ryu KW, Choi IJ, Doh YW, et al. Surgical indication for non-curative endoscopic resection in early gastric cancer. *Ann Surg Oncol*2007; 14:3428-3434.
46. 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.
47. Park SR, Lee JS, Kim CG, et al. Endoscopic ultrasound and computed tomography in restaging and predicting prognosis after neoadjuvant chemotherapy in patients with locally advanced gastric cancer. *Cancer* 2008; 112:2368-2376.
48. Kim JP, Hur YS, Yang HK. Lymph node metastasis as a significant prognostic factor in early gastric cancer: analysis of 1,136 early gastric cancers. *Ann Surg Oncol* 1995; 2:308-313.
49. Siewert JR, Bottcher K, Stein HJ, Roder JD. Relevant prognostic factors in gastric cancer: ten-year results of the German Gastric Cancer Study. *Ann Surg* 1998; 228:449-461.
50. Park JH, Park KJ, Kim YS, et al. Serum angiopoietin-2 as a clinical marker for lung cancer. *Chest* 2007; 132:200-206.
51. Sun XD, Liu XE, Wu JM, et al. Expression and significance of angiopoietin-2 in gastric cancer. *World J Gastroenterol*2004; 10:1382-1385.
52. Zhang L, Yang N, Park JW, et al. Tumor-derived vascular endothelial growth factor up-regulates angiopoietin-2 in host endothelium and destabilizes host vasculature, supporting angiogenesis in ovarian cancer. *Cancer Res* 2003 63:3403-3412.
53. Ahmad SA, Liu W, Jung YD, et al. Differential expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 in colon carcinoma. A possible mechanism for the initiation of angiogenesis. *Cancer* 2001; 92:1138-1143.
54. Etoh T, Inoue H, Tanaka S, et al. Angiopoietin-2 is related to tumor angiogenesis in gastric carcinoma: possible in vivo regulation via induction of proteases. *Cancer Res* 2001; 61:2145-2153.
55. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for



Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis, *Science* 1997; 277:55-60.

56. Davis S, Aldrich TH, Jones PF, et al. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning, *Cell* 1996; 87:1161-1169.

57. Gale NW, Thurston G, Hackett SF, et al. Angiopoietin-2 is required for postnatal angiogenesis and lymphatic patterning, and only the latter role is rescued by Angiopoietin-1, *Dev Cell* 2002; 3:411-423.

58. Sobin L, Wittenkind C. International Union Against Cancer (UICC) TNM Classification of Malignant Tumours 5th ed, New York: Wiley-Liss 1997:5962.

59. Niedzwiecki S, Stepien T, Kopec K, et al. Angiopoietin 1 (Ang-1), angiopoietin 2 (Ang-2) and Tie-2 (a receptor tyrosine kinase) concentrations in peripheral blood of patients with thyroid cancers, *Cytokine* 2006; 36(5-6):291-295.

60. Vart RJ, Nikitenko LL, Lagos D, et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded interleukin-6 and G-protein-coupled receptor regulate angiopoietin-2 expression in lymphatic endothelial cells, *Cancer Res* 2007; 67(9):4042-51.

61. Currie MJ, Gunningham SP, Han C, et al. Angiopoietin-1 is inversely related to thymidine phosphorylase expression in human breast cancer, indicating a role in vascular remodeling, *Clin Cancer Res* 2001; 7:918-927.

62. An JY, Baik YH, Choi MG, et al. Predictive factors for lymph node metastasis in early gastric cancer with submucosal invasion: analysis of a single institutional experience, *Ann Surg* 2007; 246:749-753.

63. Li C, Kim S, Lai JF, et al. Risk factors for lymph node metastasis in undifferentiated early gastric cancer, *Ann Surg Oncol* 2008; 15:764-769.

64. Gapathi IS, So BY, Ho KY. Endoscopic ultrasonography for gastric cancer Does it influence treatment? *Surg Endosc* 2006; 20: 559-562.

65. Bhandari S, Shim CS, Kim JH et al. Usefulness of three-dimensional, multidetector row CT (virtual gastroscopy and multiplanar reconstruction) in the evaluation of gastric cancer: a comparison with conventional endoscopy, EUS, and histopathology, *Gastrointestinal endoscopy* 2004; 59:619-626.

66. Longatto-Filho A, Pinheiro C, Ferreira L, et al. Peritumoural, but not intratumoural, lymphatic vessel density and invasion correlate with colorectal carcinoma poor-outcome markers, *Virchows Arch* 2008; 452:133-138.

67. Rubbia-Brandt L, Terris B, Giostra E, et al. Lymphatic vessel density and vascular endothelial growth factor-C expression correlate with malignant behavior in human pancreatic endocrine tumors, *Clin Cancer Res* 2004; 10:6919-6928.

## 7. 첨부서류

○ 본 연구사업의 성과로 논문, 저서, 산업재산권, 정책정책 기여 등이 있을 경우 관련 증빙자료를 첨부토록 함