**한국췌장외과연구회 연구계획서**

**1. 연구계획 요약**

|  |  |
| --- | --- |
| 연구 제목 | (국문) 진행성 담낭암에서 사람상피세포증식인자수용체2형 (HER-2)의 예후 예측인자로서의 의의 및 향후 치료와의 연계성 |
| (영문) Prognostic significance and therapeutic implication of HER-2 in advanced gallbladder cancer |
| 책임연구자 | 중앙대학교병원 외과학교실 이승은 교수 |
| 연구 목적 | 진행성 담낭암 환자에서 HER2 과발현 정도를 살펴보고 HER2 과발현이 담낭암의 예후 예측 인자로서 의미가 있는지 검토하여 향후 HER2 단일 클론 항체를 이용한 담낭암 치료 임상 연구의 근거를 마련하고자 한다. |
| 연구 설계 | 후향적 다기관 연구 |
| 연구 기간 | 2019년 3월1일 ~ 2020년 2월 28일 |
| 연구 대상 | 수술 또는 조직검사상으로 T3 또는 T4 담낭암 (AJCC 8TH edition) 으로 확진된 환자 중 파라핀 병리 조직이 이용 가능한 환자들. |
| 연구 방법 | * 상기 선정 기준에 의해 선정된 환자들의 임상정보, 영상 소견, 병리 소견 등을 후향적으로 분석 * 파라핀 병리 조직을 이용하여 조직미세배열 블록(tissue microarray)을 제작하고 HER2항체에 대한 면역조직화학염색을 시행하여 과발현 정도를 판독 * HER2과발현 양성도와 환자의 재발율, 생존율 등과의 연관성을 비교 분석. |
| 기대효과 및  예상결과 | * 진행성 담낭암에서 HER2 과발현의 임상적 의의 및 예후 예측인자로서의 의미를 규명 * 향후 HER2 단일클론 항체 치료 임상 연구의 근거 자료로 활용 * 향후 ErbB 신호전달체계와 연계된 담낭암 발생 기전 연구에 기여 |

**2. 국내외 연구동향**

**담낭암의 역학 및 우리나라에서 담낭암 연구의 중요성**

담낭암은 담도계에서 발생하는 가장 흔한 암이기는 하지만 2014년에 IARC (International Agency for Research on Cancer) 에서 발표한 Globocan 보고서에 따르면 위장관에 발생하는 암중에서는 발생율 5위이지만 전체 암종 중에서는 발생율 20위로 비교적 드문 암으로 알려져 있다. 당시 보고에서 우리나라는 칠레, 볼리비아에 이어 세계에서 세번째로 담낭암이 많이 발생하는 국가로 조사되었으며, 일반적으로 서양에 비하여 우리나라, 칠레, 인도, 일본 등에서 높은 발생율을 기록하는 매우 특징적인 지역 분포를 보이는 암이다. 이처럼 담낭암은 서양에서는 비교적 드문 암이어서 담낭암에 대한 상대적인 관심도가 낮을 뿐만 아니라 전향적 연구가 시행되기 어려워서 치료와 관련한 무작위 대조군 연구는 전무후무한 상태이며 또한 비교적 많은 수의 담낭암 환자를 대상으로 한 후향적 연구도 손에 꼽을 정도로 부족한 상태이다. 따라서 담낭암 호발국가 중의 하나인 우리나라에서 시행하는 담낭암에 대한 다기관 연구 결과는 의학적으로 매우 중요한 자료로서 의미를 가질 것이다.

**담낭암의 임상적 특징**

담낭암은 전형적인 증상이 없어서 조기 진단이 매우 어렵고 따라서 진단 당시 이미 전신 전이 등 상당히 진행된 경우에 발견되는 경우가 많다. 특히 T3, T4 담낭암의 경우에는 근치적 절제 후에도 5년 생존율이 20% 미만으로 보고 되고 있고 수술 후 조기에 재발과 전이가 발생하여 예후가 매우 안 좋은 경우가 대부분이다. 그러나 담낭암이 매우 드문 암인데다가 담낭암만을 대상으로 한 연구가 매우 제한적이어서 이런 경우에 항암 치료의 효과는 잘 알려져 있지 않으며 표적 항암제의 효과에 대해서도 아직 이렇다 할 연구가 없는 상태이다. 따라서 담낭암의 예후를 향상시키기 위해서는 효과적인 치료 표적을 찾아내는 것이 매우 중요하다고 하겠다.

HER-2/neu유전자는 인체의 17번 염색체 장완(17q21)에 위치하는 원종양 유전자(proto-oncogene)로서 185KDa 크기의 당단백으로 HER-1, HER-3, HER-4와 함께 세포막 성장인자 수용체 단백질 그룹을 이루며 세포내 신호전달 체계에서 신호의 증폭에 중요한 역할을 한다. HER2는 여러 암의 발생에 관여함이 이미 널리 알려져 있고 담낭암과의 연관성에 대한 연구도 소수 발표되었다(Table 1). 그러나 연구에 포함된 케이스 숫자가 적었을 뿐만 아니라 연구마다 HER 발현에 대한 정의가 달라서 담낭암에서 HER2 발현의 임상적 의의에 대해서는 아직까지 공통된 의견이 없는 상태이다. 다만, HER2 유전변형 마우스를 이용한 연구에서 담낭벽 기저층의 HER2 과발현이 100% 담낭암 발생으로 이어짐을 보여주었으며 또 다른 연구에서는 담낭암에서 다른 담도암에 비하여 ErbB 신호전달 체계에서 더 자주 돌연변이가 일어남을 보여줌으로써 HER2가 담낭암 발생 과정에서 중요한 역할을 하고 있을 것임을 추론해 볼 수 있다(Kiguchi K (2001))

Table 1. 담낭암에서 HER2 발현을 확인한 연구들

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Study | Country | N | IHC scoring | Internationally agreed criteria for IHC assessment? | HER2 IHC | | Prognostic implication |
| N | % |
| Suzuki T 1993 | Japan | 43 (early12, advanced31) | A four-point scale: 0, 1+, 2+, and 3+ (2+ was considered high expression | No | 6/12  24/31 | 50  77.4 | No |
| Kalekou H. 2004 | Greece | 33 (early5, advanced28) | A four-point scale: 0, 1+, 2+, and 3+ (3+ was considered high expression | Yes | 1/5  7/28 | 20  25 | No |
| Matsuyama S 2004 | Japan | 43 | A four-point scale: 0, 1+, 2+, and 3+ (3+ was considered high expression | No | 2/43 | 4.7 | No |
| Nakazawa K 2005 | Japan | 89 | A four-point scale: 0, 1+, 2+, and 3+ (2+ was considered high expression | No |  | 15.7 | No |
| Chaube A 2006 | India | 78 | A four-point scale: 0, 1+, 2+, and 3+ (2+ was considered high expression | No | 10/78 | 25 | No |
| Pignochino Y 2010 | Italy | 34 | A four-point scale: 0, 1+, 2+, and 3+ (2+ was considered high expression | No |  | 38.5 | No |
| Toledo C 2012 | Chile | 22 (early10, advanced12) | cell membrane immunoreactivity was considered positive | No | 9/10  4/12 | 90  33.3 | No |
| Roa I 2014 | Chile | 187 (early28, advanced159) | As per ASCO guidelines | Yes | 2/28  22/159 | 7.1  13.8 | Yes |
| Yan  2015 | USA | 194 | As per ASCO guidelines | Yes | 19/194 | 9.8 | No |
| Kawamoto T 2015 | USA | 47 | A four-point scale: 0, 1+, 2+, and 3+ (2+ was considered high expression | No | 15/47 | 32 | No |

이러한 HER2 과발현과 담낭암과의 연관성에 대한 연구를 바탕으로 하여 최근 HER2 양성인 담낭암 환자의 경우 HER2 단일 클론 항체인 trastuzumab 에 좋은 반응을 보인다는 연구들이 발표되었고 (Law LY (2012), Sorscher S (2013)) 이후 비로소 미국에서 HER2 양성 담낭암 환자를 대상으로 한 trastuzumab 치료 2상 임상 연구가 시작되었다(http://clinicaltrials.gov/show/NCT00478140). 그러나 안타깝게도 이 연구는 조기 종료되었는데 조기 종료의 이유는 약물에 대한 반응이 나빴다거나 수용 불가능할 정도의 부작용이 있어서가 아니라 단지 연구 참여자가 부족해서였다. 따라서 이런 문제를 해결하기 위해서는 우리나라를 비롯한 담낭암 호발 국가 주도 하에 HER2양성 담낭암 환자에서 HER2 단일 클론 항체를 이용한 임상 시험이 필요하다고 하겠다. 그러나 이를 시행하기에 앞서 담낭암 환자에서 HER2 발현 정도와 이것의 임상적 의의, 예후 예측인자로서의 의미를 검토하는 일이 선행되어야 할 것이다.

**3. 연구목적 및 계획**

본 연구에서는 진행성 담낭암 환자에서 HER2 과발현 정도를 살펴보고 HER2 과발현이 담낭암의 예후 예측 인자로서 의미가 있는지 분석하여 향후 HER2 단일 클론 항체를 이용한 담낭암 치료 임상 연구의 근거를 마련하고자 한다.

**4. 연구방법**

1. **연구 대상 선정 기준 및 제외 기준**

**-** 선정기준: 2010년 1월부터 2017년 12월까지 수술 또는 조직검사상으로 T3 또는 T4 담낭암 (AJCC 8TH edition) 으로 확진된 환자.

T3 : tumor perforate the serosa (visceral peritoneum) and/or directly invades the liver and/or one other adjacent organ or structure, such as the stomach, duodenum, colon, pancreas, omentum, or extrahepatic bile ducts.

T4 : tumor invades the main portal vein or hepatic artery or invades two or more extrahepatic organs or structures

- 제외기준: 상기 환자 중 파라핀 병리 조직을 얻을 수 없는 환자는 제외

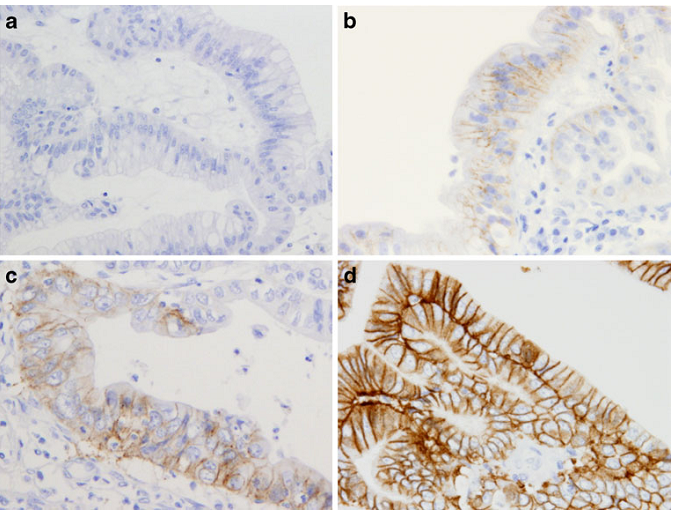
1. **구체적인 연구 방법**

* 상기 선정 기준에 의해 선정된 환자들의 기본적인 임상정보, 영상 소견, 병리 소견 등을 후향적으로 분석한다.
* 상기 선정 기준에 의해 선정된 환자들의 파라핀 병리 조직을 이용하여 조직미세배열 블록(tissue microarray)을 제작하고 HER2항체에 대한 면역조직화학염색을 시행한다.
* HER2과발현 양성도는 CAP/ASCO (College of American Pathologist/American Society of Clinical Oncology) 가이드라인의 유방암 스코어링 시스템을 따른다 (Table 2, Fig 1). 이때 판독은 숙련된 병리의사가 시행한다.
* HER2과발현 양성도와 환자의 재발율, 생존율 등과의 연관성을 비교 분석함으로써 예후 예측 인자로서의 의미를 분석한다.

Table 2. HER2/neu scoring guideline

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Score |  | HER2 Overexpression |
| 0 | Negative/no staining: staining in <10% of tumor cells | Negative |
| 1 | Negative/faint: barely perceptible incomplete membrane staining in >10% of tumor cells | Negative |
| 2 | Equivocal/weak to moderate: complete membrane staining in >10% of tumor cells | Equivocal |
| 3 | Positive/strong: complete membrane staining in >30% of tumor cells | Positive |

Fig. 1. CAP/ASCO 가이드라인에 따른 HER2 면역 염색 스코어링 결과. a: 0점 (negative), b: 1점 (negative), c: 2점 (equivocal), d: 3점 (positive)



* 통계방법: (SPSS software 23.0 이용)
* 임상병리학적　인자의　비교: 연속변수와　비연속변수에　대한　비교는　각각　student t-test 와　chi-square test를　이용하여　분석한다.
* 생존 및　무병　생존　기간　분석：　Kaplan Meier method를　이용한다.

**3) 수집할 데이터 항목**

* + 기본정보: 임상시험기관명[HOSPITAL], 연구자, 환자 성명 (코드화하여 익명 보장), 병록번호 (코드화하여 익명 보장), 성별, 나이
  + 영상 검사 결과 (CT, MRI, PET 등) : 주병변 소견 및 주변 장기 침습 여부, 타장기 전이 여부 등
  + 수술 관련정보: 수술일 (또는 조직검사일), 수술명, 수술방법(개복/복강경), 동반절제유무
  + 병리결과 정보: 크기, 근치적 절제정도 (R0/R1/R2), WHO 분류, TNM 병기, 절제된 림프절 갯수, 전이된 림프절 갯수, angiolymphatic/perineural invasion여부, 주위 장기 침범 여부
  + 추적관찰 정보: 재발 여부, 재발 양상, 재발 부위, 재발 진단일, 마지막 추적 관찰일, 마지막 추적관찰 상태, 사망하였다면 사망일

**5. 예상되는 연구결과 및 발전방향**

* 진행성 담낭암에서 HER2 과발현의 임상적 의의 및 예후 예측인자로서의 의미 규명
* 향후 HER2 단일클론 항체를 이용한 진행성 담낭암 치료 임상 연구의 근거 자료로 활용
* 향후 ErbB 신호전달체계와 연계된 담낭암 발생 기전 연구에 기여

**6. 참고문헌**

GLOBOCAN 2014: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2014

Law LY. Dramatic response to trastuzumab and paclitaxel in a patient with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic cholangiocarcinoma. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol 2012; 30(27):e271–e273.

Sorscher S. Marked radiographic response of a HER-2-overexpressing biliary cancer to trastuzumab. Cancer Manag Res 2013;9:1–3.

Kiguchi K, Carbajal S, Chan K, Beltran L, Ruffino L, Shen J, Matsumoto T, Yoshimi N, DiGiovanni J. Constitutive expression of ErbB-2 in gallbladder epithelium results in development of adenocarcinoma. Cancer Res. 2001; 61:6971–6976.

Li M, Zhang Z, Li X, Ye J, Wu X, Tan Z, Liu C, Shen B, Wang XA, Wu W, Zhou D, Zhang D, Wang T, et al. Whole-exome and targeted gene sequencing of gallbladder carcinoma identifies recurrent mutations in the ErbB pathway. Nat Genet. 2014; 46:872–876.

Kaseb A. (2014) A phase II study trastuzumab (NSC 688097) in Her2/Neu positive cancer of the gallbladder or biliary tract (NCI7756) [http://clinicaltrials.gov/show/NCT00478140. Accessed 20 Dec 2014](http://clinicaltrials.gov/show/NCT00478140.%20Accessed%2020%20Dec%202014)

Suzuki T, Takano Y, Kakita A, Okudaira M. An immunohistochemical and molecular biological study of c-erbB-2 amplification and prognostic relevance in gallbladder cancer. Pathol Res Pract 1993; 189(3):283–292.

Kalekou H, Miliaras D. Immunohistochemical study of microvessel density, CD44 (standard form), p53 protein and cerbB2 in gallbladder carcinoma. J Gastroenterol Hepatol 2004; 19(7): 812–818.

Matsuyama S, Kitajima Y, Sumi K, Mori D, Satoh T, Miyazaki K. Gallbladder cancers rarely overexpress HER-2/neu, demonstrated by Hercep test. Oncol Rep 2004;11(4):815-819.

Nakazawa K, Dobashi Y, Suzuki S, Fujii H, Takeda Y, Ooi A. Amplification and overexpression of c-erbB-2, epidermal growth factor receptor, and c-met in biliary tract cancers. J Pathol 2005;206(3):356–365.

Chaube A, Tewari M, Garbyal RS, Singh U, Shukla HS. Preliminary study of p53 and c-erbB-2 expression in gallbladder cancer in Indian patients manuscript ID: 8962091628764582. BMC Cancer 2006:6:126.

Pignochino Y, Sarotto I, Peraldo-Neia C, Penachioni JY, Cavalloni G, Migliardi G, Casorzo L, Chiorino G, Risio M, Bardelli A, Aglietta M, Leone F. Targeting EGFR/HER2 pathways enhances the antiproliferative effect of gemcitabine in biliary tract and gallbladder carcinomas. BMC Cancer 2010;10:631.

Toledo C, Matus CE, Barraza X, Arroyo P, Ehrenfeld P, Figueroa CD, Bhoola KD, Del Pozo M, Poblete MT. Expression of HER2 and bradykinin B(1) receptors in precursor lesions of gallbladder carcinoma. World J Gastroenterol 2012;18(11):1208–1215.

Roa I, de Toro G, Schalper K, de Aretxabala X, Churi C, Javle M. Overexpression of the HER2/neu gene: a new therapeutic possibility for patients with advanced gallbladder cancer. Gastrointest Cancer Res 2014;7(2):42–48.

[Nam AR](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Nam%20AR%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Kim JW](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kim%20JW%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Cha Y](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Cha%20Y%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Ha H](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ha%20H%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Park JE](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Park%20JE%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Bang JH](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Bang%20JH%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Jin MH](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Jin%20MH%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Lee KH](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Lee%20KH%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Kim TY](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kim%20TY%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Han SW](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Han%20SW%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Im SA](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Im%20SA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Kim TY](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kim%20TY%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Oh DY](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Oh%20DY%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322), [Bang YJ](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Bang%20YJ%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27517322). Therapeutic implication of HER2 in advanced biliary tract cancer. [Oncotarget.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Therapeutic+implication+of+HER2+in+advanced+biliary+tract+cance) 2016 Sep 6;7(36):58007-58021

**7. 연구추진일정**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **내용** | **2019 년 3월 ~ 2020 년 2 월** | | | | | | | | | | | |
| **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** | **9** | **10** | **11** | **12** | **1** | **2** |
| 각 병원별 데이터 업로드 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 환자 명단 및 파라핀 블록 확보 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 조직미세배열 (TMA) 제작, 면역조직화학 염색 및 판독 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 면역 염색 판독 데이터 취합 및 기타 데이터 미비부분 보충 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 데이터 분석 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 논문 작성 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

**8. 연구분담표**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **연구내용** | **연구자** | | |
| **소속** | **직위** | **성명** |
| 환자 기본 정보 및 임상 데이터 수집, 분석 | 중앙대학교병원 외과학교실 | 부교수 | 이승은 |
| 환자 기본 정보 및 임상 데이터 수집 | 중앙대학교병원 외과학교실 | 교수 | 최유신 |
| 환자 기본 정보 및 임상 데이터 수집 | 중앙대학교병원 외과학교실 | 조교수 | 서석원 |
| 조직미세배열 블록(tissue microarray) 제작, HER2항체에 대한 면역조직화학염색 및 판독 | 중앙대학교병원 병리학교실 | 교수 | 김희성 |

**9. 소요예산**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **항목** | **내역** | **수량** | **단가** | **금액** | **합계** |
| 재료비 | Tissue array 제작비 (30만원/개,  59 samples/개 ) | 10 | 30만원 | 300만원 | 300만원 |
| 재료비 | HER2 항체 및 염색비용 (test 당) | 500 | 1만원 | 500만원 | 500만원 |
| 자문비 (병리의) | 병리 판독료 |  | 50만원 | 50만원 | 50만원 |
| 간접비 |  |  |  | 150만원 | 150만원 |
| 계(100%) |  | | | | 1000만원 |