

※ 총 연구기간 1~5년, 암맹평가 대상

[연구계획서 업로드 양식]

## 2017년도 이공학개인가초연구(기본 . 지역)

### 신규 신청과제 연구계획서

과제명	국문	유방암의 고선량 수술 중 방사선치료 후 미세환경 변화 분석을 통한 조직손상 및 치료효과 예측인자 발굴 연구
	영문	Investigation of predictive markers of normal tissue injury and treatment outcome via microenvironment analysis after high-dose intraoperative radiotherapy for breast cancer

2017. 2.

한국연구재단

# 1. 연구의 목표 및 내용

## 1) 개요 및 연구목표

종양을 수술적으로 제거한 후 주변장기에 침범이 있거나 절제연이 양성인 경우 수술 후 방사선치료를 통해 국소 재발율을 현저히 낮출 수 있다. 하지만, 방사선이 체내 종양에 도달하기 위해서는 정상 장기를 통과하게 되며 소장이나 척추신경 같이 방사선에 민감한 장기로 인해 충분한 선량을 조사하기 어려운 경우가 종종 발생한다. 이에 반해, 수술 중 방사선치료 (intraoperative radiotherapy, IORT)는 종양 적출 직후 방사선에 민감한 장기를 피해서 종양제거 부위에만 고선량의 방사선을 조사하는 방법으로 수술 후 회복기간을 거치지 않아도 되는 매우 효과적인 치료지만 수술 중에 환자를 방사선치료실로 옮겨와야 하는 단점이 있어 활용도가 높지 않았다. 최근 들어 선형가속기를 소형화하여 수술장 안으로 이동하여 방사선치료를 할 수 있게 되었는데, 이 중 Intrabeam™ (Carl Zeiss, Germany)은 50 kV의 x-선을 전 방향성 (isotropic)으로 발생시키며 구형 어플리케이터 (spherical applicator)를 종양 적출 부위에 삽입하여 방사선을 조사하는 장치로, 50 kV x-선의 특징은 종양 적출부위에 20 Gy를 처방할 경우 조직내로 깊어질수록 급격한 선량감소 (dose fall-off)가 발생하여 주변 정상 조직을 효과적으로 보호할 수 있다 (1). Intrabeam™을 이용한 수술 중 방사선치료는 현재 유방암 환자를 대상으로 다국적 전향적 연구가 진행 중이며, 본 기관에서는 2014년부터 Intrabeam™을 도입하여 200명 이상의 유방암 환자를 치료하였다. 유방암 환자에서 종양 제거 수술 후 주변조직의 미세환경 변화는 종양재발에 보다 유리한 환경을 제공하는 것으로 알려져 있는데 (2), Intrabeam™을 이용한 기존 연구에 따르면, 수술 부위에서 발생한 체액이 유방암 세포증식을 촉진한 반면 Intrabeam™을 이용한 수술 중 방사선치료 후 발생한 수술 부위 체액은 유방암 세포증식을 촉진하지 않았다고 보고하고 있어 (3) 수술 중 방사선치료로 인한 수술부위의 미세환경 변화가 종양세포 증식에 영향을 미치는 것으로 기대할 수 있다. 반면, 수술 중 방사선치료는 20 Gy의 고선량 방사선이 수술 부위에 집중되기 때문에, 수술 부위 체액발생 증가, 상처회복 지연, 방사선유도 피부염 및 조직괴사, 모세혈관확장증 등의 급·만성 부작용이 발생할 수 있고 (4), 이는 1.8~2.0 Gy 28~33회 시행하는 통상분할 방사선치료로 인한 부작용과는 발생 기전의 차이가 있음이 알려져 있다. 본 연구는 유방암 환자에서 수술 중 방사선치료 후 발생하는 정상조직 및 종양 미세환경의 변화를 분석하여 방사선 유도 부작용 및 치료효과와 연관된 면역인자를 규명하고 고선량 수술 중 방사선 치료의 효용성을 입증하는 것을 목표로 한다.

## 2) 연차별 목표 및 연구내용

연차	연구목표	연구내용	성과목표	소요예산 (백만원)
1차년도 (2017.6)	유방암환자에서 수술 중 방사선치료 후 피부선량 측정 및 면역인자와의 상관관계 분석	전체유방 방사선치료 후 추가치료 (대조군)와 수술 중 방사선치료 후 전체유방 방사선치료 (시험군)로 나누어 피부선량 및 방사선유도 조직섬유화 측정 수술 중 방사선치료 전·후 혈액과 수술부위 장액에서 면역인자 정량 및 피부선량과의 상관관계 확인 시험군과 대조군 사이의 피부선량 및 면역인자 발현과 급성 부작용 발생을 비교	분야 상위 20% 학술지 1건 이상 게재	50
2차년도 (2018.6)	고선량 방사선 조사 후 정상조직 및	수술 중 방사선치료 후 재절제 조직의 미세환경 변화 분석 고선량 방사선조사 후 마우스 피부 모델에서 선량에 따른 정상조직 미세환경 변화 분석	분야 상위 20% 학술지 1건 이상 게재	50

	종양 미세환경 변화 분석	마우스 유방암 모델을 통한 고선량 방사선 조사 후 종양 미세환경 변화 분석		
3차년도 (2019.6)	유방암 수술 중 방사선치료 후 면역 반응 인자 발현과 만성부작용 및 국소재발율과의 상관관계 분석	전체유방 방사선치료 후 추가치료 (대조군)와 수술 중 방사선치료 후 전체유방 방사선치료 (시험군) 간의 만성부작용 발생률 및 치료성적 비교  시험군과 대조군 사이의 혈액 및 장액 내 면역인자 발현과 부작용 및 국소재발율과의 상관관계 분석	분야 상위 10% 학술지 1건 이상 게재	50

## 2. 연구의 필요성

### 1) 연구의 개념 및 연구가설

종양의 방사선치료 시 주변 정상조직이 방사선치료 범위에 포함될 경우 방사선으로 인한 급·만성 부작용이 발생할 수 있다. 회당 1.8~2.0 Gy씩 조사하여 총 30회 가량 치료하는 통상분할 방사선치료의 경우 선형방형 (linear-quadratic) 모델을 통한 선량반응관계 (dose-response relationship)가 알려져 있고 부작용 발생의 예측이 가능하지만 수술 중 방사선치료의 경우 1회 15~20 Gy의 고선량 방사선 조사가 필요함에도 선량반응관계가 불분명하고 선형방형 모델의 경우 회당 8 Gy가 넘어가면 치료반응 예측에 부적절하여 추가 연구가 필요하다. 수술 중 방사선치료는 종양적출 부위에 20 Gy의 고선량 방사선을 조사하기 때문에 치료부위 미세환경 (microenvironment)에 다양한 변화를 일으키게 되고 특히, 고선량 근접 방사선조사 후 변화되는 염증유발 (pro-inflammatory), 섬유화유발 (pro-fibrotic) 인자들은 고선량 방사선으로 인한 조직 손상 정도와 상관관계가 있을 것으로 기대된다. 본 연구팀은 돼지와 마우스 피부에 고선량 방사선을 조사하여 선량반응관계 및 사이토카인과 조직 섬유화와의 상관관계를 보고한바 있다 (그림 1) (5,6). 유방암 환자에서 종양 제거 수술 후 주변조직의 미세환경 변화는 종양재발에 보다 유리한 환경을 제공하고 Intrabeam™을 이용한 수술 중 방사선치료 후 발생한 수술 부위 체액이 유방암 세포증식을 억제하는 효과를 보이는 등 수술 중 방사선치료가 종양제거 부위의 미세환경에 변화를 일으켜 종양억제 효과를 유도하는 것으로 기대하고 있으나 아직 그 기전에 대한 이해가 부족하다. 유방 절제술 후 수술부위 체액을 분석한 연구에 따르면 양성질환에 비해 악성종양 절제 후 체액에서 growth-regulated protein (GRO), epithelial-derived-neutrophil-activating peptide 78 (ENA-78/CXCL5), tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) 등의 면역인자는 증가하고 insulin-like growth factor binding protein 1 (IGFBP1), IL-3, IFN- $\gamma$ , FGF-9, IL-16의 발현이 감소한다는 보고가 있어 (7) 이를 수술 중 방사선치료 후 종양반응 예측인자로 사용이 가능할 것으로 기대된다. 본 연구팀은 수술 중 방사선 치료 후 정상조직과 종양 미세환경 변화의 분석을 통해 수술 중 방사선치료 후 발생가능한 부작용 및 예후를 예측할 수 있는 면역인자를 발굴하고 이를 소동물 모델에서 확인하고자 한다.

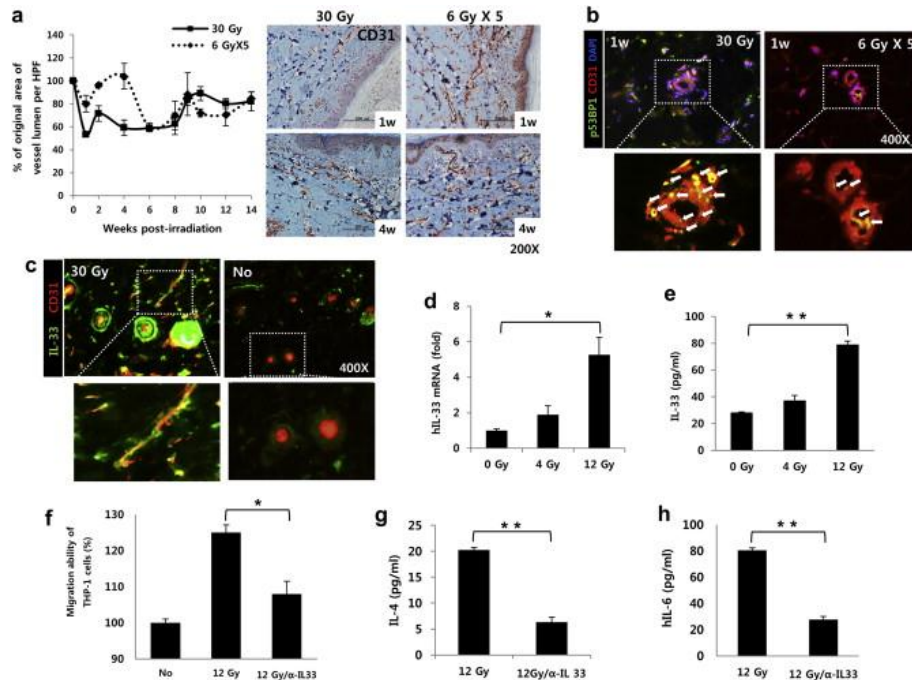


그림 1. 고선량 방사선조사 후 동물모델에서 사이토카인 발현과 조직섬유화 메커니즘을 분석함.

## 2) 연구의 필요성

유방암 환자에서 유방보존치료는 부분유방 절제술 후 6~7주에 걸쳐 전체유방 방사선치료와 수술부위 추가치료가 표준이지만 최근에는 조기 유방암 환자를 대상으로 1~10회 부분유방 방사선치료로 끝내는 가속 부분유방 방사선 치료 (accelerated partial breast irradiation)가 시도되고 있다. Intrabeam<sup>TM</sup>을 사용한 Targeted Intraoperative Radiotherapy (TARGIT) A 연구는 선별된 조기 유방암환자에서 수술 중 방사선치료가 전체 유방방사선치료와 비교하여 국소재발에서 비열등함 (non-inferior)을 보여주었다 (4). 하지만 수술 중 방사선치료 도중 피부에 과도한 선량이 조사될 경우 창상회복에 영향을 줄 수 있고, 수술부위 장액 (seroma) 발생과 조직섬유화 (tissue fibrosis) 증가의 보고도 있어 (8) 부작용 발생에 대한 보다 체계적인 연구가 필요하다. 방사선조사량에 따른 조직변화에 대한 연구는 생체내 선량측정 (in-vivo dosimetry)이 중요한데 기존의 연구에서는 생체내 선량측정이 방사선치료의 정도관리 (quality assurance) 도구로만 이용되어 활용도가 낮았고, 이들 연구에서는 전체유방 방사선치료 없이 수술 중 방사선치료만 시행하여 부작용 발생 가능성이 상대적으로 낮았다 (9). 본 기관에서는 전체유방 방사선치료와 함께 수술 중 방사선치료를 병행하고 있는데 병행치료의 경우 아직까지 후향적 보고만 있으며 (10, 11) 조직손상에 대한 체계적인 분석과 면역인자와의 연관성에 대한 연구는 부족하다.

1.8~2.0 Gy씩 조사하여 총 30회 가량 치료하는 통상분할 방사선치료에 비해 10~15 Gy 씩 4회 또는 20 Gy 1회의 저분할로 (hypofractionated) 시행되는 정위적방사선치료 (stereotactic radiotherapy)는 방사선생물학적 측면에서 종양억제에 유리한 면이 있으나 아직 그 기전에 대해서는 정확히 알려진 바가 없고 대부분의 자료는 동물실험을 통해 얻어진 것이다. 이는 주로 정위적방사선치료를 시행하는 부위가 뇌, 뼈, 간, 폐 등 치료 후 변화 확인을 위해 조직을 얻기 어렵고 영상으로만 확인할 수 있었기 때문이다. 반면 유방암 환자의 수술 중 방사선치료는 치료 부위에 대한 육안적 관찰이 용이하고 생체내 선량측정 및 수술부위에 모이는 장액을 흡인할 수 있어 부작용 발생을 예측하고 면역인자 증가 정도와 상관관계를 확인할 수 있다는 장점이 있다. 더욱이 Intrabeam<sup>TM</sup>은 종양적출 부위에 한번에 20 Gy를 조사할 수 있는 국내에서 유일한 장비로, 환자에게 추가적인 위해를

가하지 않으면서 고선량 방사선치료가 인체의 normal tissue microenvironment에 어떤 변화를 일으키는지 확인할 수 있는 유일한 기회이다.

### 3. 연구의 추진전략 및 방법

#### 1) 1차년도: 유방암환자에서 수술 중 방사선치료 후 피부선량계측 및 면역인자와의 상관관계 분석

본 연구팀은 2014년 8월부터 유방보존수술을 받는 한국 유방암 환자를 대상으로 수술 중 방사선치료와 전체유방 방사선치료 종료 후 6개월 이내 급성 국소독성 발생을 primary end point로 하는 2상 임상연구 (IRB No. 3-2013-0299, NCT02213991)를 시행중이며 목표인 215명의 등록을 완료하여 preliminary data를 보고할 예정이다. 임상 2상 연구 등재 완료 후 수술 중 방사선치료의 생물학적 효용성을 확인하기 위한 중개연구 (translational research)를 기획하였고 본 기관의 임상연구 윤리위원회 승인을 획득하였다 (IRB No. 3-2016-0242). 그 연구방법은 아래와 같다.

동일 기간 동안 수술 중 방사선치료 후 전체유방 방사선치료를 받는 환자 (시험군) 20명과 전체유방 방사선치료 후 종양 제거 부위 추가방사선치료를 받는 환자 (대조군) 20명 등록을 목표로 하고 중도탈락율을 고려하여 각 군 당 23명, 총 46명의 환자를 대상으로 한다.

#### 가. 수술 중 방사선치료와 피부선량 측정

수술 중 방사선치료는 부분유방 절제술 직후에 시행한다. 허용되는 범위에서 가장 큰 사이즈의 구형 어플리케이터를 삽입 후 cavity 안의 유방 조직이 어플리케이터 표면을 균일하게 감싸도록 한다. 피부에 조사되는 선량을 확인하기 위해 광자극발광 선량계 (optically stimulated luminescence dosimeter, OSLD)를 사용하여 생체내 선량측정을 시행한다 (그림 2). 50 kV x-선을 통해 어플리케이터 표면에 20 Gy가 조사되도록 처방한다.

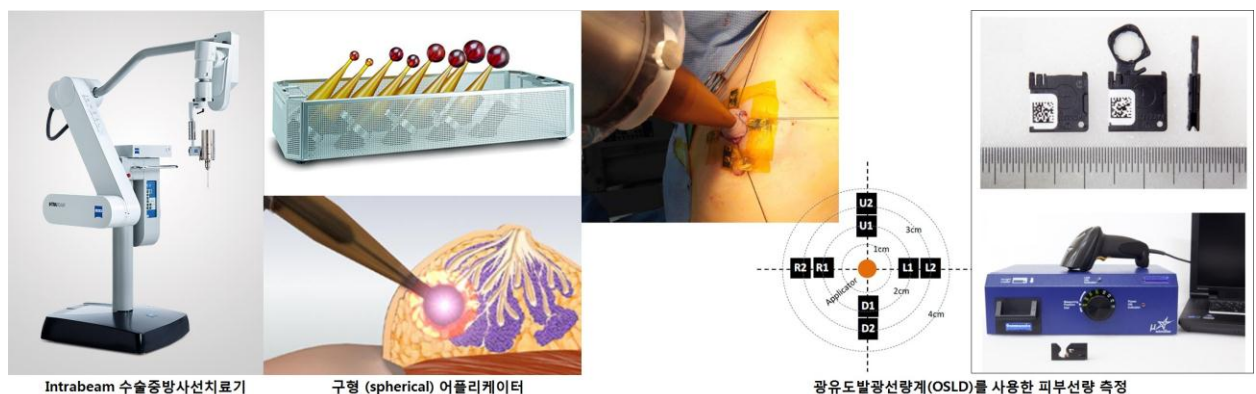


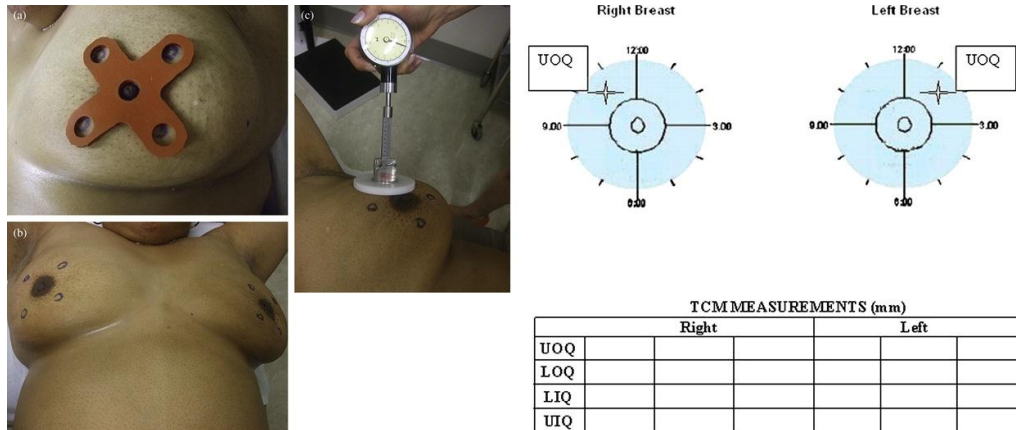
그림 2. 유방암환자의 수술중방사선치료와 OSLD 생체내선량측정 (in vivo dosimetry)

#### 나. 전체유방 방사선치료

전체유방 방사선치료는 유방보존 수술 종료 후 4~6주에 시작할 수 있다. 시험군은 6 MV 광자선을 사용하여 전체유방에 대해 매일 분할선량 1.8~2 Gy 씩 주 5회 조사하여 46 Gy 또는 50.4 Gy 조사한다. 대조군의 경우 분할선량 1.8 Gy 씩 50.4Gy 전체유방 방사선치료 후 전자선을 사용하여 수술부위에 1.8 Gy 씩 5회 추가 치료한다.

다. 방사선치료 후 조직섬유화 측정 (Radiation-induced fibrosis, RIF)

시험군과 대조군 모두에서 방사선치료 후 조직의 섬유화 정도를 수술 전, 전체유방 방사선조사 전, 수술 후 6, 12, 24개월 시점에서 Late Effects of Normal Tissue-Subjective Objective Management Analytical (LENT-SOMA) scale과 tissue compliance meter (TCM)를 사용하여 측정한다. TCM을 사용하여 양측 유방의 4분면의 각각의 점에서 용입 깊이 (depth of penetration)를 측정하고, 수술부위와 반대 측 유방의 대칭부위에서도 용입 깊이를 측정하고 기록한다. 측정을 2회 반복한다. 좌우 측정값의 차이를  $\Delta$ TCM으로 기록하고  $\Delta$ TCM 값이  $\leq 2.9$ , 3.0-5.9, 6.0-8.9,  $\geq 9.0$  mm 일 경우 RIF = 0, 1, 2, 3 으로 기록한다 (그림 3).



**그림 3. Tissue compliance meter (TCM)를 이용한 방사선유도 섬유화 (Radiation-induced fibrosis, RIF) 측정**

라. 검체의 수집 및 면역인자 정량과 분석

수술 전 (baseline), 전체유방 방사선치료 전, 수술 후 6, 12, 24개월 시점에서 EDTA tube에 총 10-15 mL 혈액을 채취한다. 혈액에서 platelet-poor plasma와 peripheral blood mononuclear cell (PBMC)을 분리한 후 영하 200° C이하의 질소탱크에 plasma와 PBMC를 보관한다. 수술 후 1주일 시점에 수술부위에 생긴 장액 (seroma)을 모아 원심분리기를 통해 부유물을 분리해낸 후 영하 80° C 이하의 deep freezer에 보관한다. Molecule-specific enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 이용하여 혈액과 장액에서 염증 및 섬유화와 관련된 면역인자인 IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-33, TGF- $\beta$ , CCL-11를 정량한다. 수술부위 장액에서 종양반응인자인 GRO, ENA-78/CXCL5, TIMP-2, IGFBP1, IL-3, IFN- $\gamma$ , FGF-9, IL-16의 발현을 확인한다. 모든 표본은 duplicate내지 triplicate하여 면역인자를 정량한다.

마. 급성 부작용 분석 및 수술 중 방사선치료 피부선량과 혈액/수술부위 장액 내 면역인자 발현과의 상관관계 분석

수술 후부터 전체유방 방사선치료 종료 후 6개월 이내 발행하는 독성을 급성기 독성으로 정의하고 아래 항목들을 평가한다.

1) 수술적 처치가 필요한 혈종



2) 세 차례 이상의 흡인이 필요한 장애종

3) 상처 벌어짐 혹은 상처회복 지연

4) 수술적 처치가 필요한 기타 합병증

5) Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) version 2.0에서 3등급 이상의 피부염, 방사  
서조사부위 통증을 포함한 합병증

시험군에서 수술 중 방사선치료 피부선량과 수술 전 후 혈액 및 수술부위 장액에서 발현된 면역  
인자와의 관련성을 분석한다. 시험군과 대조군사이의 급성독성 발생율의 차이를 Khai square  
test를 이용하여 비교한다. 혈액과 수술 부위 장액에서 발현된 면역인자와 급성독성 발생과의  
상관관계를 분석한다.

## 2) 2차년도: 고선량방사선 조사후 정상조직 및 종양미세환경 변화분석

가. 수술 중 방사선치료 후 재절제 조직의 미세환경 변화 비교

2014년 8월부터 2016년 12월까지 본원에서 유방보존 수술 및 수술 중 방사선치료를 시행한 250명 중 frozen  
section에서 free of tumor로 나와 수술을 종료했으나 permanent pathology에서 잔존 종양이 확인되어 재절제를  
시행한 10명과 (시험군) 같은 기간 동안 수술 중 방사선치료 없이 유방보존 수술을 시행 후 permanent pathology  
에서 잔존 종양이 확인되어 재절제를 시행한 환자들 중 case-matching을 통해 10명을 선정 (대조군) 하여 두군의  
재절제 조직을 비교한다. 두 군의 재절제 조직에서의 현미경적 소견을 비교하고 면역염색을 통해 microvasculature  
의 변화 (anti-CD31)와 염증 및 섬유화 인자 (IL-6, TGF-1)의 발현정도를 비교한다 (5, 6).

나. 마우스 피부 방사선조사 및 선량증가에 따른 면역인자 확인

마우스 등쪽 털을 제거한 뒤 아래 그림처럼 고정시킨 후 머리, 척추, 복부 등 중요부위 차폐 뒤  
선형가속기를 이용하여 6 MeV 전자선을 조사한다 (그림 4). 각 그룹 당 5마리씩 0 Gy (대조군),  
10, 20, 30 Gy를 1회 조사하여 피부변화를 사진촬영 하고 방사선조사 부위 피부를 2, 4, 6, 8주  
뒤에 피부생검을 시행하여 방사선량과 시간 경과에 따른 조직 변화와 섬유화정도를 관찰한다.  
마우스 생검 조직에서 IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-33, TGF- $\beta$ , CCL-11을 정량하여 유방암 환자와 마우  
스에서 공통적으로 발현이 증가하는 면역인자를 방사선 유도 피부 손상정도를 대변하는 예 측인  
자로 사용한다.

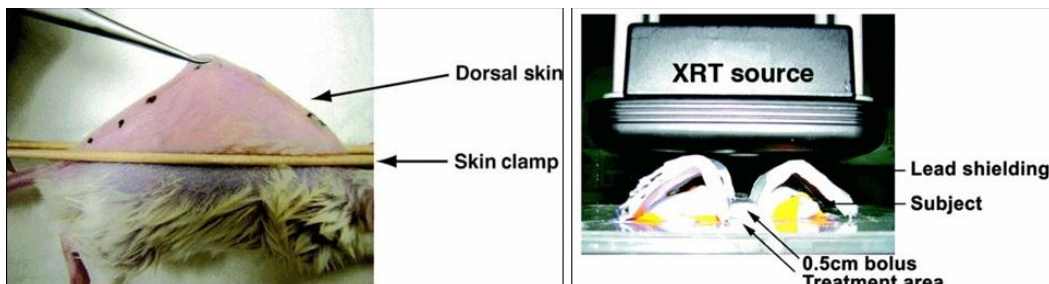


그림 4. 선형가속기를 이용한 마우스 피부 방사선조사

다. 동물 종양 모델을 통한 고선량 방사선치료 후 종양 미세환경 변화 분석

유방암 세포주를 이용, 마우스 모델 대퇴부에 배양한 세포 ( $5 \times 10^4$  cells)를 주입하여 측정 가능한 크기 (eg. 1 cm)까지 성장시킨다. 머리, 척추, 복부 등 중요부위 차폐 뒤 선형가속기를 이용하여 6 MeV 전자선을 20 Gy 1회 조사한다. 대조군 (0 Gy) 15마리, 실험군 (20 Gy) 15마리를 3마리씩 방사선조사 전, 방사선조사 후 1일, 1주, 2주, 4주 시점까지 관찰하면서 육안적 종양의 크기와 luciferase activity를 측정 (그림 5) 후 종양을 적출하여 종양의 크기와 용적을 측정한다. 적출된 종양조직에서 발현되는 종양반응인자 (GRO, ENA-78/CXCL5, TIMP-2, IGFBP1, IL-3, IFN- $\gamma$ , FGF-9, IL-16)의 발현을 ELISA를 통해 정량한다.

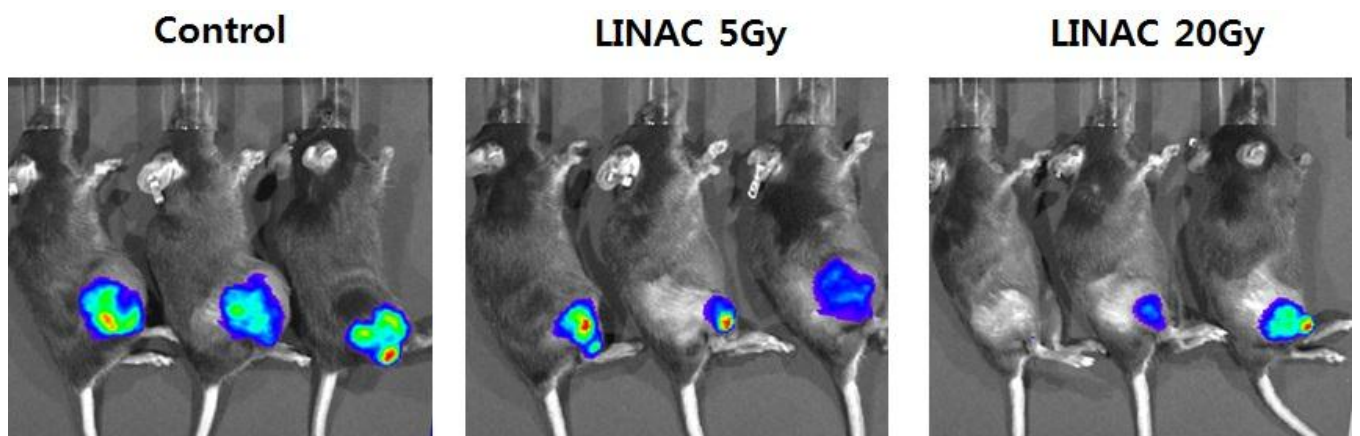


그림 5. 본 연구팀에서 시행한 악성흑색종 세포주 마우스모델에 대한 방사선조사 후 Luciferase activity 변화

### 3) 3차년도: 유방암의 수술 중 방사선치료 후 면역반응인자와 만성 부작용 및 국소재발율과의 상관관계 분석

가. 유방암 수술 중 방사선치료 후 만성 부작용 및 치료성적 비교

Kaplan-Meier 방법을 통해 3년 동측 유방내 재발율 (ipsilateral breast tumor recurrence rate), 전신 재발율 (systemic recurrence rate), 전체 생존율 (overall survival rate)를 산출한다. 만성 기 국소독성은 전체유방 방사선치료 종료 후 6개월 이후부터 3년 이내 발생한 것으로 Late Effects Normal Tissue-Subjective Objective Management Analysis (LENT-SOMA) 척도로 평가한다.

나. 혈액장액 내 면역인자 발현과 부작용 및 국소재발율과의 상관관계 분석

수술 전 (baseline), 전체유방 방사선치료 전, 수술 후 6, 12, 24개월 시점에서 채집한 혈액, 수술 후 채집한 수술부위 장액에서 확인된 면역인자는 방사선 유도 섬유화 정도에 따라 두 군으로 나누어, 두 군간 유의한 평균의 차이가 있는지 Bonferroni method를 이용하여 분석한다. 유의한 결과는 P value가 0.05 미만인 경우로 정의하며, 상기방법으로 두 군간 유의한 차이를 보이는 인자에 대하여 receiver operating characteristics (ROC) 분석을 이용하여 방사선유도 섬유화에 대해 단일 인자, 또는 복수의 인자로 피부 섬유화의 발생가능성을 예측하는 예측도



(predictability)를 측정한다. 수술 부위 장액에서 정량한 종양반응인자 (GRO, ENA-78/CXCL5, TIMP-2, IGFBP1, IL-3, IFN- $\gamma$ , FGF-9, IL-16)의 발현 정도와 국소재발율과의 상관관계를 분석한다.

#### 4. 연구결과의 중요성

Intrabeam™은 종양적출 부위에 한번에 20 Gy를 조사할 수 있는 국내에서 유일한 장비로, 환자에게 추가적인 위해를 가하지 않으면서 고선량 방사선치료가 인체의 normal tissue microenvironment에 어떤 변화를 일으키는지 확인할 수 있는 유일한 기회이다. 또한 본 기관에서는 유방암환자의 수술 중 방사선치료 도입 시부터 광자극발광선량계 (OSLD)를 이용한 생체내 선량측정을 통해 피부선량에 대한 부작용발생을 분석하는 연구를 진행하였고 피부에 8 Gy 이상의 고선량이 조사될 경우 grade 2의 급성 피부염이 발생할 수 있음을 확인하였다 (12). 유방암 환자의 수술 중 방사선치료는 복강·골반 내 수술 중 방사선치료와 달리 치료부위에 대한 육안적 관찰이 용이하고 생체내선량측정 및 수술부위에 모이는 장액을 흡인할 수 있어 부작용 발생을 예측하고 면역인자 증가 정도와 상관관계를 확인할 수 있다는 장점이 있다. 본 연구에서는 이를 통해 수술 중 방사선치료와 전 체유방 방사선치료를 병행하여 부작용 발생 위험이 상대적으로 높은 환자들에서 선량-반응 관계를 확인할 예정이며 이는 서구 환자에 비해 상대적으로 유방 크기가 작은 우리나라 환자에서 부작용 발생정도를 체계적으로 확인할 필요가 있다. 유방암 환자에서 수술 중 방사선치료에 대한 연구결과는 다수 발표되고 있으나 부작용 및 치료성과 관련된 예후인자에 대한 실험실 데이터는 부족한 편이다. 본 기관에서는 Intrabeam™을 이용한 수술 중 방사선치료를 국내에 도입하기 위해 신의료기술 인증을 준비를 하고 있으며 이를 위해 임상연구 결과와 함께 생물학적으로 수술 중 방사선치료의 효용성을 밝힐 필요가 있어 본 연구의 결과가 유용하게 사용될 것으로 기대하고 있다.

#### 5. 연구기간 및 연구비 적정성

연차	연구내용	연구기간 적정성	연구비 적정성
1	<ul style="list-style-type: none"> <li>수술 중 방사선치료군과 대조군에서 피부선량 및 조직섬유화 측정 전향적 연구 수행</li> <li>대상환자의 혈액 및 수술부위 장액에서 면역 사이토카인 정량</li> <li>대조군과 시험군 간의 급성 부작용 발생을 비교</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1년간 40명 환자 등록 후 2년간 추적 관찰 예정으로 1년차 종료 시점에 preliminary data 및 급성부작용 발생을 비교 발표 예정임.</li> <li>방사선치료 전후 검체와 1년 추적 관찰 시 검체에서 면역인자를 정량하고 피부선량과의 상관관계를 분석할 예정임.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>임상연구 진행, 피부선량 측정, 면역인자 정량에 필요한 인건비, 연구수당 책정함</li> <li>마우스, cytokine array, ELISA kit 등 연구장비·재료비 책정함</li> <li>국외여비, 논문게재료 등 연구활동비 책정함</li> <li>월 1회 이상 회의비 포함 추진비 책정함</li> </ul>
2	<ul style="list-style-type: none"> <li>수술 중 방사선치료 후 재절제 조직의 미세환경 변화 분석</li> <li>마우스 피부 모델에서 방사선량 증가에 따른 정상조직 미세환경 변화 분석</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>1차년도 연구에서 면역 사이토카인 확인되면 이어서 동물실험 시작 예정임. 마우스 피부모델에서 방사선량에 따른 정상조직 미세환경 변화 분석에 6개월, 마우스 유방암 모델 확립 및 고선량 방사선 조사 후 종양 미세환경 변화</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>동물실험, 면역인자 정량에 필요한 인건비, 연구수당 책정함</li> <li>마우스, cytokine array, ELISA kit 등 연구장비·재료비 책정함</li> <li>국외여비, 논문게재료 등 연구활동비 책정함</li> </ul>

	석 • 마우스 유방암 모델을 통한 고선량 방사선 조사 후 종양 미세환경 변화 분석	분석에 6개월 소요될 예정임. • 피부섬유화 측정 및 혈액 내 면역인자 발생을 방사선치료 종료 후 24개월 까지 지속할 예정임.	• 월 1회 이상 회의비 포함 추진비 책정함
3	• 대조군과 시험군 간 만성 부작용 발생을 및 치료성적 비교 • 대조군과 시험군 간 혈액 및 장액 내 면역인자 발현과 부작용 및 국소재발율과의 상관관계 분석	• 연구개시 후 시작된 시험군과 대조군의 부작용 발생 및 국소재발율을 3차년도까지 수집하여 비교분석하고 면역인자 발현과의 상관관계를 분석, 결과를 발표할 예정임. • 연구 종료 후 추적관찰을 지속하여 5년 국소재제율, 생존율을 발표 예정임.	• 임상연구 진행, 면역인자 정량에 필요한 인건비, 연구수당 책정함 • 마우스, ELISA kit 등 연구장비·재료비 책정함 • 전문가 자문, 학회 등록비, 번역 및 논문 게재료 포함 연구활동비 책정함 • 월 1회 이상 회의비 포함 추진비 책정함

## 6. 기타

# 국가연구개발사업 연차실적계획서(위탁과제 평가용, 협약용)

양식A101

① 부처사업명(대)	원자력연구개발사업		② 보안등급(보안, 일반)	일반				
③ 사업명(중)	방사선기술개발사업		④ 공개가능여부(공개, 비공개)	공개				
⑤ 세부사업명(소)	방사선 의학기술							
과제성격 (기초, 응용, 개발)	개발	실용화 대상여부 (실용화, 비실용화)		실용화				
⑥ 총괄(상위) 과제명	켈로이드 및 피부암 치료용 x-선 근접치료장비 개발							
과제명	국 문	X-선 근접치료장비 치료효과 검증 및 임상시험						
	영 문	Laboratory investigation and clinical trials for verification of efficacy of X-ray brachytherapy device for the treatment of skin cancer						
⑦ (총괄)주관연구기관	연세대학교	⑧ 사업자 등록번호	110-82-10500					
⑨ 협동(공동)연구기관								
⑩(총괄)연구책임자	성 명	이익재	직급(직위)	부교수				
	소속부서	방사선종양학과	전공	방사선종양학				
	전화		E-mail					
	휴대전화		팩스번호					
	연차등록번호	10177117						
연구개발비 및 참여연구원수 (단위: 천원, 명)								
년 도	정부출연 금(A)	기업체부담금			정부외출연금 (B)	합계 G=(A+B+E)	상대국 부담금 (F)	참여 연구원수
		현금 (C)	현물 (D)	소계 E=(C+D)				
1차년도	105,000			0		105,000		10
2차년도	80,000			0		80,000		15
3차년도	80,000			0		80,000		15
4차년도				0		0		
5차년도				0		0		
합계	265,000	0	0	0	0	265,000	0	40
총연구기간	2015. 08. 01- 2018. 07. 31 (36개월)							
다년도협약연구기간	2015. 08. 01- 2018. 07. 31 (36개월)							
당해연도연구기간	2017. 08. 01- 2018. 07. 31 (12개월)							
⑫ 참여기관	기관명	책임자 성명	직급 (직위)	전화번호	팩스번호	E-mail	⑪ 연구자 등록번호	
⑬ 참여기업 수	중소 기업		중견 기업		대기업		기타	계 0
⑭ 국제공동연구	국제공동 연구여부	국가명	상대국 연구기관수	상대국 연구개발비	상대국연구책임자수			
<p>관계법령 및 규정과 모든 지시사항을 준수하면서 이 국가연구개발사업을 성실히 수행하고자 아래와 같이 연구개발계획서를 제출합니다. 아울러 이 연구개발계획서에 기재된 내용이 사실임을 확인하며, 만약 사실이 아닌 경우 협약 해약 등 어떠한 불이익도 감수하겠습니다.</p> <p>2017 년 9 월 26 일</p> <p>주관연구책임자 : 이 익 재 (인)</p> <p>주관연구기관장 : 최 문 근 (직인)</p> <p style="text-align: center;"><b>미 래 창 조 과 학 부 장 관 귀 하</b></p>								

## 〈 국 문 요 약 문 〉

양식A201

연구개발목표 (500자 내외)	피부암에 대한 x-선 근접치료장비의 동물 실험을 바탕으로, x-선 근접치료장비의 효용성을 평가하고, 이를 임상적으로 이용하고자 함		
연구개발내용 (1000자 내외)	<u>X-선 근접치료장비 도입 및 임상시험</u> 1. 방사선 안전관리 규정 검토 2. 개발한 장비 본원 도입에 대한 서류 작성 3. 의료기기 허가를 위한 전문 업체 자문 4. 임상시험 디자인 및 IRB 승인 5. 임상시험 대상자 선정 6. 전임상시험의 연구를 통한 방사선치료 선량 등의 스케줄 결정 7. 다양한 applicator를 이용한 방사선치료의 진행		
연구개발성과	X-선 근접치료장비에 대해 방사선 안전관리 규정 검토 및 전문 업체의 자문을 통해 본 연구기관의 장비 도입과 의료기기 허가에 대한 전문가 조언을 받아 임상시험을 위한 기반을 다진다. 임상시험에 대한 디자인을 습득하고, IRB 승인 후 임상 이용에 대한 가능성을 기대해 볼 수 있음		
활용계획 및 기대효과 (500자내외) (응용분야 및 활용범위 포함)	1. 피부암 치료기술 개발로 국민 의료복지 증진에 기여할 수 있음. 2. 새로운 첨단 방사선 의료기기의 임상시험을 통한 안정성 확보 및 의료기기 인허가를 통한 부가가치를 창출할 수 있음. 3. 차세대 방사선원의 의료기기 인허가를 통한 의료기기 국산화로 수입대체/수출효과 및 방사선 의료산업의 선진화를 기대해 볼 수 있음. 4. 대형, 고가의 선형가속기를 대체할 수 있는 소형 저가의 치료장비의 개발 및 의료기기 인허가를 통해 국내 및 국외의 병원의 방사선 치료기기의 보급성을 넓힐 수 있음.		
중심어_국문	피부암	X-선 근접조사	어플리케이션

## 〈 영 문 요 약 문 〉

양식A202

Purpose	Based on animal experiments of X-ray brachytherapy for skin cancer, we evaluate the efficacy of X-ray brachytherapy device and use it clinically.		
Contents	<p>Introduction of X-ray brachytherapy and clinical trial using it</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Review of radiation safety management</li> <li>2. Preparation of a documents for the introduction of the equipment</li> <li>3. Consultation with specialized companies for medical device licensing</li> <li>4. Design of clinical trial and IRB approval</li> <li>5. Selection of clinical trial subjects</li> <li>6. Determination of schedule including radiation dose through preclinical study</li> <li>7. Start radiotherapy using variable applicators</li> </ol>		
Development results	By reviewing of radiation safety management and consultation with experts for medical device licensing, we prepared a documents for the introduction of the equipment and establish the basis for clinical trials. We can acquire the basis of clinical trial and expect the possibility of clinical use of the device after IRB approval.		
Expected Contribution	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. It can contribute to promotion of medical welfare of the people through development of skin cancer treatment technology.</li> <li>2. It is possible to create added value through securing stability through clinical trials of new advanced radiation devices and licensing these medical devices.</li> <li>3. We can expect import substitution / export effect and advancement of radiation medical industry by domesticization of medical device through licensing of medical device of next generation radiation source.</li> <li>4. It is possible to expand the availability of radiotherapy devices in domestic and overseas hospitals through the development of small and inexpensive treatment devices that can replace large, expensive linear accelerators and licensing of medical devices.</li> </ol>		
Keywords	Skin neoplasm	x-ray brachytherapy	applicator

## 〈 보 안 성 검 토 〉

양식A102

연구책임자 의견	본 연구와 관련된 주요 결과물들은 논문 게재와 특허 출원 등을 이미 하였거나 할 예정이므로 보안상의 문제는 없을 것으로 판단 함. 또한 개발한 기술은 본 연구팀이 지닌 노하우와 지난 몇 년 간의 연구개발 경험에 바탕을 둔 것으로써, 혹 내용이 유출된다고 하더라도 타 연구팀이 본 연구팀의 수준에 쉽게 도달하기는 어려울 것으로 자체 판단함.
연구기관 자체의 검토결과	연구책임자의 의견과 동일함.

## 〈 연 구 분 야 〉

양식A103

코드구분	중심분야		관련분야1		관련분야2		관련분야3		관련분야4	
	코드	비중	코드	비중	코드	비중	코드	비중	코드	비중
국가과학기술 표준분류	EG0704	50 %	LC0410	30 %	LC0405	20 %		%		%
국가과학기술 표준분류 (적용분야)	Y09	100 %		%		%		%		%
과학기술 분야분류	G30606	60 %	G30106	30 %	G11114	10 %		%		%
6T 기술분류	020217	70 %	030211	30 %		%		%		%
NTRM 분류	B040416	100 %		%		%		%		%
원천기술 개발분야	0513	60 %	0721	30 %	0314	10 %		%		%






# I. 실 적

## 1. 연구개발 목표 (2차년도)

피부암을 이용한 동물 실험을 시행하여 x-선 근접치료장비의 효용성을 평가하고, 피부 병변 치료에 적당한 어플리케이션 모델을 제시하고자 함


## 2 연구범위 및 연구수행 방법

연구범위	연구수행방법 (이론적·실험적 접근방법)	구체적인 내용					
x-선 근접치료장 비를 이용한 동물 실험	1. 흑색종 세포 라인 (B16) 시 험관내 배양 (in vitro culture)	JCRB 세포 은행에서 흑색종 세포 라인 획득 ■ B16-F0-Luc					
	2. 동물 모델(마우스, B6) 등쪽 피하로 배양한 세포 주입	■ 5-7 주된 암컷 쥐 C57BL/6 ■ 약 5*10 <sup>4</sup> cells를 이식 ■ 우측 등쪽 피하로 배양한 세포 주입					
	3. X-선 근접 치료장비를 이용 한 다양한 선량의 X-선 조사	■ X-선 근접 치료장비와 선형가속기(LINAC) 장비를 이용하여 차이점이 있는지 비교분석함. 실험군은 아래 와 같이 대조군과 방사선조사의 선량을 5 Gy와 20 Gy 로 나누어서 조사한다. <div><div><div>Control</div></div><div><div>Low vol. X-ray brachytherapy 5 Gy 20 Gy</div></div><div><div>LINAC 5 Gy 20 Gy</div></div></div> <div>근접치료기와 선형가속기(Linac) 선량 비교</div> <table><tr><th>근접치료기기</th><th>선형가속기기</th></tr><tr><td>5Gy</td><td>5Gy</td></tr><tr><td>20Gy</td><td>20Gy</td></tr></table> ■ 각 군당 7 마리	근접치료기기	선형가속기기	5Gy	5Gy	20Gy
근접치료기기	선형가속기기						
5Gy	5Gy						
20Gy	20Gy						

<p>x-선 근접치료장비를 이용한 동물 실험</p>	<p>3. X-선 근접 치료장비를 이용한 다양한 선량의 X-선 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 세포 주입 후 7-14일 후에 방사선 조사 시행             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 5 Gy/1 fraction</li> <li>- 20 Gy/1 fraction</li> </ul> </li> </ul> <div data-bbox="767 499 1458 891">  </div> <p>그마우스 방사선 조사 실험 근접치료(좌) 및 외부 방사선 치료(우)</p>
	<p>4. In Vivo Imaging System (IVIS)</p>	<p>In vitro 상태에서 효과가 입증된 화합물에 형광 프로브를 붙인 후 optical in vivo imaging을 함.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 아래와 그림과 같은 방법으로 진행하며, 종양의 성장 상태를 실시간으로 쥐가 살아 있는 상태에서 측정함.</li> </ul> <div data-bbox="767 1503 1458 1693">  </div>
	<p>5. Tumor grown delay 측정</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 매일 종양의 장측을 측정함.</li> </ul>

### 3. 연구수행 내용 및 결과

연구 내용	연구 결과
<p>X-선 근접치료장비 및 LINAC을 이용한 x-ray 조사 후 In Vivo Imaging System (IVIS) 을 통해 luciferase의 활성도를 조사함</p>	<p>대조군과 LINAC 5 Gy, LINAC 20 Gy, 저선량 X-선 5 Gy, 저선량 X-선 20 Gy를 비교한 결과 방사선을 받은 군은 IVIS 에서 luciferase 의 활성도가 감소함</p> <div data-bbox="619 454 1295 925"> </div>
<p>Tumor grown delay 측정</p>	<p>종양의 체적이 1000 mm<sup>3</sup> 가 되는 시점</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 대조군 : 5.2 일</li> <li>- LINAC 5 Gy : 9.7 일</li> <li>- LINAC 20 Gy : 13.2 일</li> <li>- 저선량 X-선 5 Gy : 10.2 일</li> <li>- 저선량 X-선 20 Gy : 14 일</li> </ul> <div data-bbox="571 1245 1279 1747"> </div> <p>종양의 크기가 1000 mm<sup>3</sup>가 되는 시점을 측정하였을 때, 대조군은 5.2일 걸렸고, 저선량 X-선을 이용하여 5 Gy와 20 Gy를 조사하였을 때 각각 10.2과 14일로 의미 있게 증가함. LINAC을 이용하여 5 Gy과 20 Gy를 조사하였을 때 각각 9.7일과 13.2일로 의미 있게 종양 성장이 느려짐. 하지만 LINAC과 저선량 X-선 간의 종양성장의 차이는 없었음. 저선량 X-선을 이용하였을 경우 LINAC과 같이 대등한 치료 효과를 나타냄을 확인함.</p>

실험 결과 분석을 통한 임상시험 설계	<p>○ 유방암에서의 경험과 동물 실험 결과를 바탕으로 본 연구진은 췌장암에 대한 근접치료장비의 효용성과 안정성을 보기 위한 임상 시험을 설계하였고, 현재 IRB 심의 중에 있음</p> <p>■ 제목: 수술적으로 절제 가능한 췌장암 환자에서 수술 중 방사선치료의 효과에 대한 전향적 phase II 연구</p> <p>■ 연구 디자인:</p>  <pre> graph LR     A[Diagnosis of resectable pancreatic cancer] --&gt; B{Eligibility}     B --&gt; C[Surgery + IORT]     C --&gt; D[Adjuvant chemotherapy (Gemcitabine)]     D --&gt; E[follow up] </pre>
-------------------------	---

#### 4. 연구개발목표의 달성도 및 자체평가

##### 가. 연구개발목표의 달성도

목 표	달 성 도(%)	내 용
X-선 근접치료장비의 안전성, 효과 판정	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• B16-F0-Luc 흑색종 세포 라인을 이용하여 <math>5 \times 10^4</math> cells를 C57BL/6 쥐의 우측 대퇴부에 이식함.</li> <li>• X-선 근접 치료장비와 선형가속기(LINAC) 장비를 이용하여 차이점이 있는지 비교분석함.</li> <li>• 세포 주입 후 7-14일 후에 종양의 형성을 확인한 뒤 방사선 조사를 시행하였음.</li> <li>• 실험군은 대조군과 방사선조사의 선량을 5 Gy와 20 Gy로 나누어서 조사하였음.</li> <li>• 매일 종양의 장측을 측정하였고, In vivo imaging system을 이용하여 종양을 성장을 관찰하였음.</li> <li>• 위의 종양성장의 양상을 tumor growth delay curve로 분석하였음.</li> </ul>
실험 결과 분석	100%	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 유방암에서의 경험과 동물 실험 결과를 바탕으로 본 연구진은 췌장암에 대한 근접치료장비의 효용성과 안정성을 보기 위한 임상 시험을 설계하였고, 현재 IRB 심의 중에 있음</li> </ul>

나. 평가의 착안점에 따른 목표달성도에 대한 자체평가

평가의 착안점	자 체 평 가
1. 계획했던 일정대로 진행되었는가	Yes
2. 실험 과정이 계획과 일치하는가	Yes
3. 가정했던 결과를 알맞게 도출하였는가	Yes
4. 예산에 맞게 연구를 진행하였는가	Yes

5. 연구비 집행실적

(단위 : 천원)

비목	세목			계획금액	사용액	잔액	비고	
직 접 비	인건비	내부인건비	미지급		57,600 천원	57,600 천원	0 천원	
			지 급	현금	0 천원	0 천원	0 천원	
				현물	0 천원	0 천원	0 천원	
		외부인건비	미지급		0 천원	0 천원	0 천원	
			지 급	현금	11,984.018 천원	11,984.018 천원	0 천원	
				현물	0 천원	0 천원	0 천원	
		학생인건비			0 천원	0 천원	0 천원	
		인건비소계			11,984.018 천원	11,984.018 천원	0 천원	
		연구장비·재료비	현금		36,526,585 천원	34,252.962 천원	2,245.032 천원	
	현물		0 천원	0 천원	0 천원			
	연구활동비			11,751.588 천원	11,751.588 천원	0 천원		
	연구과제추진비			1,649.537 천원	1,649.537 천원	0 천원		
	연구수당			6,000 천원	6,000 천원	0 천원		
	연구비소계			55,927.710 천원	53,654.087 천원	0 천원		
	위탁연구개발비			0 천원	0 천원	0 천원		
간접비				12,145.454 천원	12,145.454 천원	0 천원		
연구비 총액				80,028.591 천원	77,783.559 천원	2,245.032 천원		

주) 연구비 집행실적은 연차실적계획서 제출시점까지의 실적을 기재하며, 비고란에 작성기준일을 기재함.

## 6. 연구수행에 따른 문제점 및 개선방향

문 제 점 또는 원인	개 선 방 향 또는 대책
없음	해당사항 없음

## 7. 중요 연구변경 사항

해당 사항 없음

## 8. 기타 건의사항

해당 사항 없음



## II. 계 획

### 1. 국내외 관련분야의 환경변화

#### 1) 국내외 켈로이드 및 피부암 환자 동향

- 건강보험심사평가원 자료를 분석한 결과, 국내 켈로이드 치료 환자수는 2010년 87,435명에서 2014년 108,169명으로 연평균 5.0 % 이상 증가를 하고 있고, 피부암 환자는 2009년 1만 980명에서 2013년 1만 5826명으로 44.1% 증가해 한해 평균 9.6%의 증가율을 보이고 있음.

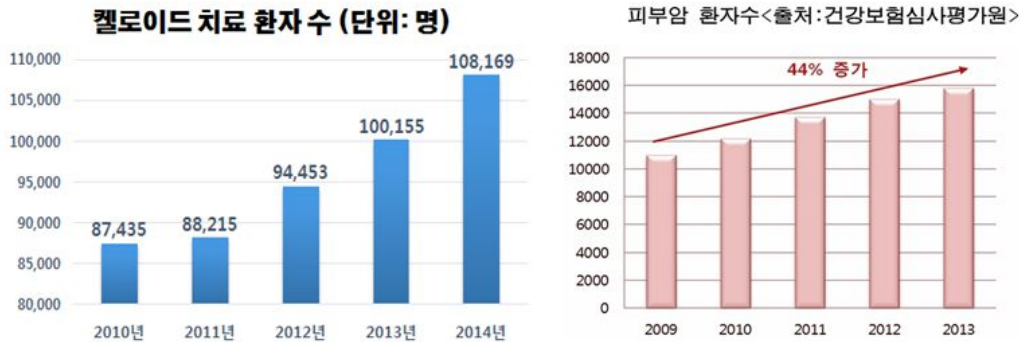


그림 1. 국내 켈로이드 & 피부암 환자 현황

- 최근 미용에 대한 관심이 증가하는 양상을 보여 피부 병변에 대한 치료 환자 수는 점점 더 증가할 것으로 예상됨. 이에따라 수술적 치료뿐만이 아니라 방사선치료에 대한 중요성이 부각되고 있음.

#### 2) 근접 방사선 치료의 가능성

- 방사선 치료에는, 저에너지 (<100 keV) X-선을 이용한 근접치료 (brachytherapy), 고에너지 (> 4 MeV) 전자빔, 동위원소를 이용한 근접치료 등이 이용되고 있음. 방사성 동위원소는 항상 방사선을 발생하므로 잘못 운영되었을 경우 치명적인 문제를 일으킬 수 있고 또한 보관 및 관리가 어려운 단점을 지님. 고에너지 전자빔은 피부를 통과하면서 영향을 받는 면적이 커져 켈로이드나 피부암 주위의 정상세포를 손상시키고, 대형이면서 고가인 선형가속기와 방사선차폐 시설이 필요하며 유지보수가 복잡한 단점을 지니고 있음.
- 국내에서 사용되는 근접치료의 예는 강남세브란스 병원에서 유방암 환자를 대상으로 시행중인 수술 중 방사선치료 (intraoperative radiotherapy, IORT)가 있음.

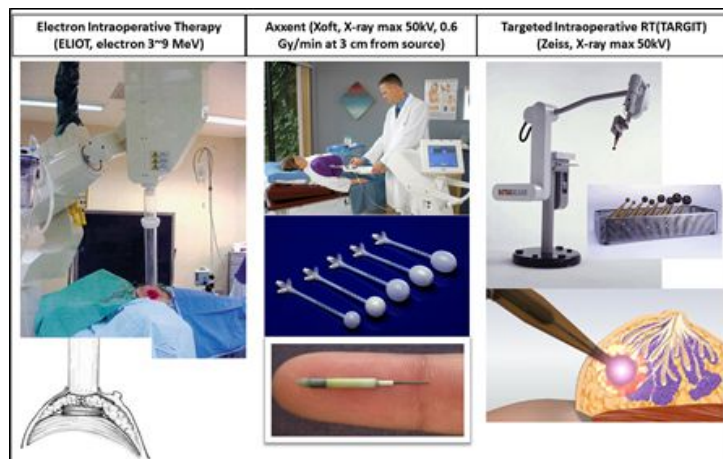


그림 2. 유방암에서의 다양한 근접방사선치료

### 3) 강남세브란스의 근접방사선치료 경험

- 본 연구진은 2014년부터 2017년 6월까지 유방암에서의 X-선 근접치료를 250건 이상 시행한 임상적 경험을 보유하고 있음. (강남세브란스병원 방사선종양학과)

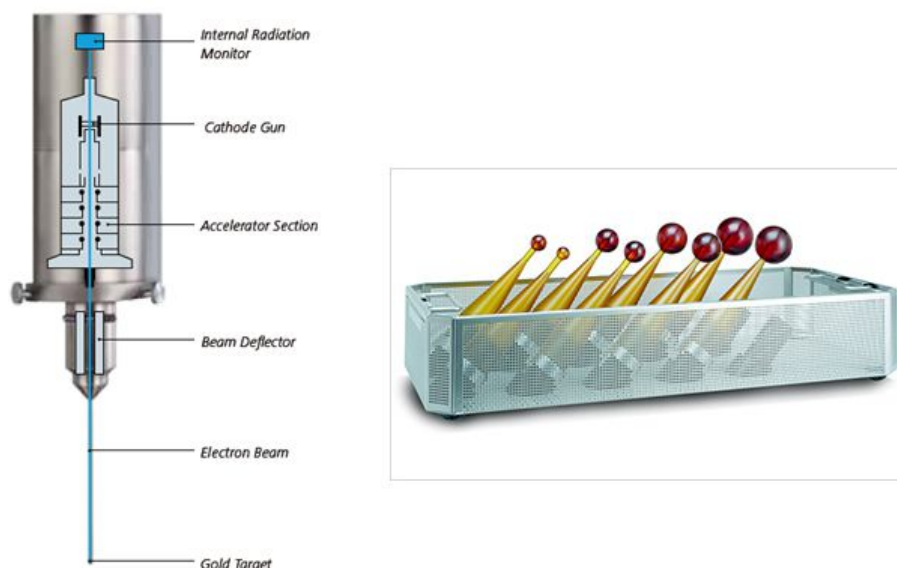


그림 3. 강남세브란스에서 사용중인 X-선 근접치료기의 X-선 발생장치와 어플리케이터

- 해당 치료의 급성 부작용 및 기타 효용성에 대해서 연구를 시행하였으며, 논문으로 출판 예정임

### 4) 피부 병변의 치료에 대한 기기 개발 및 도입의 필요성

- 켈로이드 및 피부암의 경우, 일반적으로 병변이 피부 아래 5 mm 이내에 분포하기 때문에, 피부암 또는 켈로이드를 효과적으로 치료할 수 있는 기기 및 어플리케이터의 개발이 필요한 실정임.
- 현재 피부암 치료 장치로는 스웨덴, 미국, 독일, 영국 등에서 개발하여 상용화 되어있음. 또한 전 세계에서 전계방출방식을 이용한 X-선 튜브와 의료장치들이 활발히 연구, 개발 중임. 그러나 고가의 장비로 보편화되기 힘든 단점을 지님.



그림 4. 켈로이드 및 피부암 치료용 X-선 근접치료 장비의 예 (SRT-100)

- 본 연구에서 개발중인 소형 X-선 튜브를 이용한 근접 X-선 치료장비는 이미 상용화되어 있는 기존의 장비들의 단점을 극복할 뿐만 아니라 켈로이드 치료 및 피부암 치료 이외에 자궁내막암, 유방암, 자궁경부암 같은 부인암과 직장암, 구강암, 대장암 등에도 이용될 수 있을것으로 판단됨.
- 반면, 켈로이드 및 피부암 치료를 위한 X-선 근접치료장비는 국내에는 아직 제조 및 도입된 바가 없기 때문에, 본 제품을 개발하여 상용화 하기위해서는 임상시험 및 의료기기 인허가 과정을 거쳐야 함.

##### 5) 본 연구진의 2차년도 목표 및 결과

- 임상시험의 경우 세포수준의 치료효과를 보기 위한 세포실험, 사람을 대상으로 하기 전 동물을 대상으로 치료효과를 판단하는 전임상시험, 그리고 마지막으로 사람을 대상으로 한 임상시험 단계로 나눌수 있으며, 동물실험 시행예정인 2차년도부터는 연세대학교(강남세브란스 병원 이익재 교수팀)에서 수행하였음
- 분당서울대에서 시행한 세포실험의 경우, 켈로이드에 한정된 실험이 이루어진바 본 연구진은 피부암을 이용한 동물 실험을 시행하여 X-선 근접 치료장비의 효용성을 평가하고, 피부 병변 치료에 적당한 어플리케이션터 모델을 제시하고자 하였음
- X-선 근접치료장비를 통해 피부암 세포를 이식한 mouse 에 방사선조사를 5 Gy 와 10 Gy 시행하였고 LINAC 장비와도 비교하여 효과적으로 종양을 control 하는 결과를 도출해 내었음

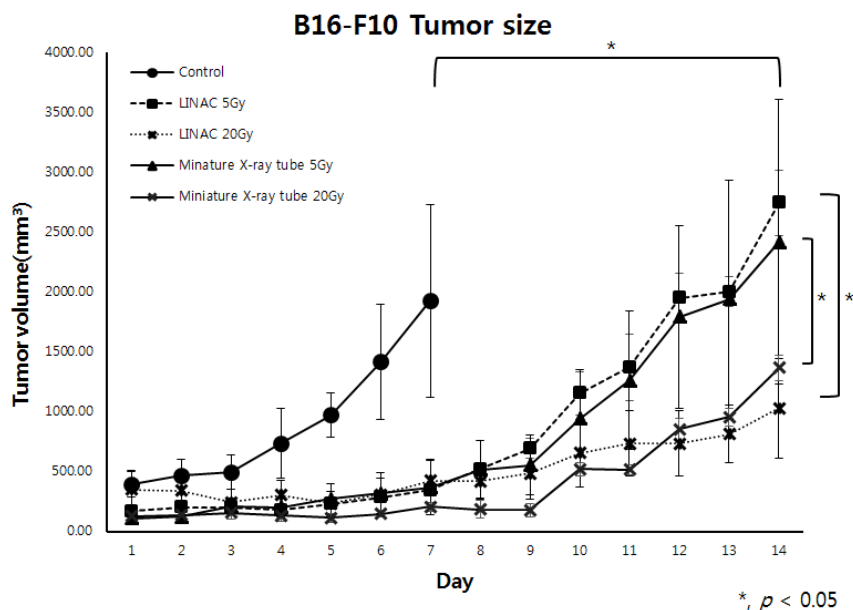
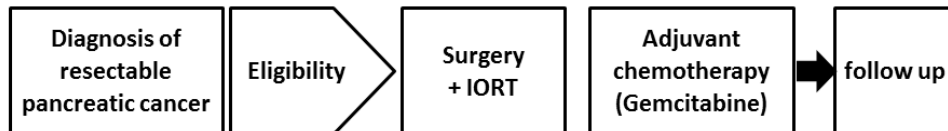


그림 5. Tumor growth delay measurment

## 6) 새로운 임상시험 설계

- 유방암에서의 경험과 동물 실험 결과를 바탕으로 본 연구진은 췌장암에 대한 근접치료장비의 효용성과 안정성을 보기 위한 임상 시험을 설계하였고, 현재 IRB 심의 중에 있음
- 제목: 수술적으로 절제 가능한 췌장암 환자에서 수술 중 방사선치료의 효과에 대한 전향적 phase II 연구
- 연구 디자인:



## 7) 목표

- 위와 같은 배경 및 본 연구진의 동물 실험, 임상 경험을 바탕으로 x-선 근접치료장비의 효용성을 평가하고, 이를 임상적으로 이용하고자 함

## 2. 연구개발 목표 및 내용

### 가. 3차년도 목표 및 내용

본 연구과제의 최종목표인 X-선 근접치료기의 효용성 및 안정성을 평가하기 위해 X-선 근접치료 장비를 이용한 임상시험 진행을 위한 탐색연구를 시행함

목 표	내 용	연 구 범 위	연구비
X-선 근접치료장비의 장비 도입 및 임상시험	1. 방사선 안전관리 규정 검토	의료기기로서의 X-선 근 접치료 장비 허가 및 도입	5,000,000
	2. 개발한 장비를 본 연구기관에 도입하기 위한 서류 작성		8,000,000
	3. 전문 업체를 통한 의료기기 허 가 과정에서 의학적 자문		4,000,000
	4. 임상시험 디자인 및 IRB 승인	임상시험 준비	7,000,000
	5. 임상시험 대상자 선정		5,000,000
	6. 전임상시험의 연구를 통한 방 사선치료 선량등의 스케줄 결정	임상시험 진행	36,000,000
	7. 다양한 applicator를 이용한 방 사선치료의 진행		15,000,000

나. 연차별 연구개발 목표 및 내용

구분	년 도	연구개발목표	연구개발내용	연구범위	연구비
1차년도	2015	X-선 근접치료장비를 이용한 세포실험	1. 켈로이드 환자의 병변에서 추출한 세포 배양 2. X-선 근접 치료장비를 이용한 배양된 세포에 다양한 dose의 X-선 조사 3. 조사 후 세포 viability를 측정 및 비교 4. X-선 근접치료장비의 켈로이드 대한 효과를 세포수준 및 병리학적 검증	X-선 치료장비의 세포수준 치료효과에 대한 자료 수집	105,000 (천원)
2차년도	2016	X-선 근접치료장비를 이용한 동물실험	1. Melanoma cell line (B16) in vitro culture 2. 동물 모델(마우스, B6) 등쪽 피하로 배양한 세포 주입 3. X-선 근접 치료장비를 이용한 다양한 dose의 X-선 조사 4. Tumor grown delay 측정을 통한 X-선 근접 치료기기의 feasibility 검토 5. 동물실험시 피부암에 적합한 applicator 검증 6. 동물실험 결과를 바탕으로 임상시험 설계	X-선 조사후 피부암 병변의 크기 측정 및 비교, 피부암에 적 당 한 applicator 모델 개발	80,000 (천원)
3차년도	2017	X-선 근접치료장비를 이용한 임상시험	1. 방사선 안전관리 규정 검토 2. 개발한 장비 본원 도입에 대한 서류 작성 3. 의료기기 허가를 위한 전문 업체 자문 4. 임상시험 디자인 및 IRB 승인 5. 임상시험 대상자 선정 6. 전임상시험의 연구를 통한 방사선치료 선량등의 스케줄 결정 7. 다양한 applicator를 이용한 방사선치료의 진행	<u>X-선 근접치료기 허가 및 도입</u>  실제 임상에서 사용하기 위한 효용성 및 안정성을 평가하기 위한 <u>탐색연구 시행</u>	80,000 (천원)



### 3. 연구추진내용

(단위 : 천원)

세부연구분야	월 단위 추진계획												소요연구비
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
방사선 안전관리 규정 검토													5,000
개발한 장비 본원 도입에 대한 서류 작성													8,000
의료기기 허가를 위한 전문 업체 자문													4,000
임상시험 디자인 및 IRB 승인													7,000
임상시험 대상자 선정													5,000
전임상시험의 연구를 통한 방사선치료 선량등의 스케줄 결정													36,000
다양한 applicator를 이용한 방사선치료의 진행													15,000

#### 4. 위탁연구책임자

##### 가. 연구책임자

##### (1) 인적사항

						양식A301	
성명	국문	이익재		생년월일	1972.04.12	성별	남
	영문	Ik Jae Lee		연구자등록 번호	10177117		
직장	기관명			전화번호			
	부서			팩스번호			
	직위			휴대전화			
	주소	( - )		E-mail			
실무담당자	성명	조연아	전화		휴대전화		E-mail

※ 실무담당자는 연구책임자와 연락이 안되는 경우 대신하여 업무 처리가 가능한 참여연구원 정보를 기재하고  
실무담당자가 없는 경우에는 비워둡니다

##### (2) 학력사항

						양식A302	
연도		학 력				학위 <sup>주)</sup>	
부터	까지	대학교	대학코드	전공명	지도교수		
1991.03	1997.02	연세대학교 원주 의과대학	13356A	의학	해당사항없음	학사	
1998.09	2001.08	연세대학교 대학원	8B3000	방사선종양학	박경란	석사	
2005.09	2011.02	연세대학교 대학원	8B3000	방사선종양학	성진실	박사	
최종학위논문제목		Microenvironmental Alterations by Radiation in Murine Hepatocarcinoma					

#### 5. 기타 주요 변경사항

- 동물 실험, 임상 경험을 바탕으로 x-선 근접치료장비의 효용성을 평가하고, 이를 임상적으로 이용하고자 3차년도에는 추가로 췌장암에 대한 임상 시험을 설계함.
- 실무 담당자(조연아) 및 참여연구원 (김세준, 이병민) 변경됨.

## 6. 연구비 소요명세서

### 가. 총괄표

#### (1) 연구비 소요내역

(단위 : 천원)

									양식A611	
비목	세목				1차년도	2차년도	3차년도	4차년도	5차년도	합계
					2015	2016	2017	YYYY	YYYY	
직 접 비	인건 비	내부 인건 비	미지급		51,300	57,600	57,600			166,500
			지급 (A)	현금	0	0	0			0
				현물	0	0	0			0
		외부 인건 비	미지급		0	0	0			0
			지급 (B)	현금	36,000	12,922	14,580			63,502
				현물	0	0	0			0
	학생 인건비(C)				0	0	0			0
	소계(D=A+B+C)				36,000	12,922	14,580	0	0	63,502
	연구장비·재 료비(E)	현금		31,545	31,259.819	29601.819			92,406.638	
		현물		0	0	0			0	
	연구활동비(F)				10,000	13,722.727	13,722.727			37,445.454
	연구과제추진비(G)				3,500	3,950	3,950			11,400
	연구수당(H)				8,730	6,000	6,000			20,730
	소계(I=E+F+G+H)				53,775	54,932.546	53,274.546	0	0	161,982.092
	위탁연구개발비(J)				0	0	0			0
직접비 소계(K=D+I+J)				89,775	67,854.546	67,854.546	0	0	225,484.092	
간접비(L)				15,225	12,145.454	12,145.454			39,515.908	
(간접비 중 연구실 안전관리비)				(874)	(836)	(836)	( )	( )	(2,546)	
연구비 총액(K+L)				105,000	80,000	80,000	0	0	265,000	

나. 민간부담 연구비중 참여기업별 부담금액(참여기업이 있는 경우만 기재)

양식A105

기 업 명	기업유형 <sup>주)</sup>	민간부담액(단위 : 천원)		
		현 금	현 물	계
				0
				0
				0
합 계		0	0	0

주) 기업유형(택1) : 중소기업(중소기업연구조합), 중견기업, 대기업(대기업연구조합), 기타

다. 비목별 연구개발비 소요명세(각 비목별 산출식 등 산출근거를 반드시 기재함)

1. 직접비	60,581천원
--------	----------

(가) 인건비

(가-1) 내부인건비 57,600,000 원

(내부인건비가 당해 연구사업에서 지급되지 않는 연구원도 관련경비의 산출근거로서 작성함)

(단위 : 천원)

							양식A401
자격	성명	소속기관명	직급	직위	참여시작일	참여종료일	지급구분
	연구자등록번호	소속부서명	국적	월급여	참여율(%)	참여개월수	총액
연구책임	이익재	연세대학교	책임급	부교수	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	10177117	방사선종양학과	대한민국	6,600	20	12	15,840
참여연구	김준원	연세대학교	선임급	조교수	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	10827831	방사선종양학과	대한민국	3,800	10	12	4,560
참여연구	박광우	연세대학교	선임급	조교수	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	11145944	방사선종양학과	대한민국	3,800	10	12	4,560
참여연구	최원훈	연세대학교	선임급	조교수	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	10180880	방사선종양학과	대한민국	3,800	10	12	4,560
참여연구	정희철	연세대학교	책임급	교수	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	10115727	종양내과	대한민국	3,800	10	12	4,560
참여연구	김영석	연세대학교	책임급	부교수	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	10548415	성형외과	대한민국	3,800	10	12	4,560
참여연구	최진현	연세대학교	선임급	강사	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	11329830	방사선종양학과	대한민국	2,500	10	12	3,000
참여연구	조연아	연세대학교	선임급	강사	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	11482242	방사선종양학과	대한민국	2,500	10	12	3,000
참여연구	이우중	연세대학교	원급	전공의	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	11482286	방사선종양학과	대한민국	1,800	10	12	2,160
참여연구	이병민	연세대학교	원급	전공의	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	11752078	방사선종양학과	대한민국	1,800	10	12	2,160
참여연구	이준복	연세대학교	원급	전공의	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	11622878	방사선종양학과	대한민국	1,800	10	12	2,160
참여연구	하진숙	연세대학교	원급	방사선사	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	11370555	방사선종양학과	대한민국	1,800	10	12	2,160
참여연구	김세준	연세대학교	원급	방사선사	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	11500506	방사선종양학과	대한민국	1,800	10	12	2,160
참여연구	박미래	연세대학교	원급	연구원	2017.08.01	2018.07.31	미지급
	11342104	방사선종양학과	대한민국	1,800	10	12	2,160

(가-2) 외부인건비

14,580,000 원

(단위 : 천원)

								양식A612
자격	성명	소속 기관명	직급	직위	참여 시작일	참여 종료일	구분	지급 구분
	연구자 등록번호	소속 부서명	국적	월 급여	참여율(%)	총액		
참여 연구	김지영	연세대학교	원급	연구원	2017.08.01	2018.07.31	주관	지급
	11679820	방사선종양학과	대한민국	1,800	90	14,580		

(나) 학생 인건비(학생 인건비 통합 관리 시행 기관인 경우) (통합 관리 미 시행 기관인 경우 삭제)

(단위 : 천원)

					양식A613
구분	월 급여	월 작업량 (man-month)	총액	비고	
박사 후 연구원					
박사 과정					
석사 과정					
학사 과정					
합 계					

(나) 학생 인건비(학생 인건비 통합 관리 미 시행 기관인 경우) (통합 관리 시행 기관인 경우 삭제)

(단위 : 천원)

									양식A615
성명	과정명	학과	학부명	월 급여	참여시작일	참여종료일	참여개월 수	참여율 (%)	합계



※ 타 연구사업 참여현황

부처명	사업명	과제명	성명	참여유형	참여율
미래창조과학부	2016년 기술이전사업화 사업	국소부위 암 치료용 전계방출 초소형 X-선 근접치료시스템 실용화	이익재	연구책임자	20%
한국연구재단	방사선소관사업	담도암에서 치료 표적 물질로서의 Axl 의 생물학적 역할 규명	이익재	연구책임자	20%

(다) 연구장비·재료비

(단위 : 원)

구분	금액	내용	비고
기기·장비 및 연구시설비			
시약 및 재료비	29,601,819	Athymic nu/nu mice 20 * 75,000 봉합사 1 * 85,000 1ml insulin syringe 2 * 20,000 TC Classic Micro Needle Holder 2 * 150,000 TC Hegar Needle Holder 1 * 235,000 Iris Forcep 1 * 44,000 Splitter Forcep 3 * 45,000 Iso-flurane 1 * 40,000 Real-Time PCR Primer 1 * 50,000 Rea-Time PCR tube 3 * 1,000,000 Verteporfin 1 * 76,000 Syber Green Master Mix 2 * 350,000 RT-PCR kit 2 * 870,000 RNeasyMinEluteclean upkit 2 * 420,000 Superscript II 2 * 360,000 1 Kb DNA Extension Ladder 1 * 165,000 Trizol 2 * 380,000 BSA 1 * 270,000 blue Tip(1000Tip) 2 * 330,000 PVDF membrane 2 * 700,000 ECL WB Reagent 2 * 770,000 Micro Tube 1.5ml 3 * 700,000 Acrylamide/Bis 30% 2 * 770,000	

		Protein ladder	2	*	440,000	
		Gelcassettes	2	*	440,000	
		FBS with Media	2	*	600,000	
		Cell culture dishes (6 well)	2	*	55,000	
		Cellculturedishes(24well)	2	*	50,000	
		Cell Culture Dishes (96 wels)	3	*	130,000	
		pipet 10ml	2	*	280,000	
		pipet 5ml	2	*	110,000	
		Conical Tube 15ml	1	*	30,000	
		Conical Tube 50ml	2	*	280,000	
		Latex gloves	1	*	70,000	
		25T flask	2	*	20,000	
		75T flask	1	*	130,000	
		Trypsin EDTA	1	*	59,819	
		Ethanol	3	*	10,000	
		Yellow Tip(200Tip)	2	*	22,000	
		Cryovial	3	*	250,000	
		YAP/TAZ antibody	2	*	500,000	
		TEAD1 antibody	1	*	478,000	
		Erk antibody	1	*	450,000	
		AKT antibody	1	*	470,000	
		phospho-ERK antibody	1	*	530,000	
		phospho-AKT antibody	1	*	400,000	
		Goat anti-rabbit IgG-HRP	1	*	110,000	
		Goat anti-mouse IgG-HRP	2	*	110,000	
		Luciferase Assay Kit	1	*	1,200,000	
		StealthRNAi™siRNAs	1	*	350,000	
		Invasion Assay Kit	1	*	400,000	
시작품·시험설비 제작경비						
합 계	29,601,819					

## (라) 연구활동비

(단위 : 원)

구 분		산 정 기 준	금액	비 고
여 비	국 외	2,500,000x1건	2,500,000	
인쇄,복사,인화, 슬라이드 제작비		건		
공공요금				
제세공과금, 수수료		부가가치세	7,272,727	
전문가 활용비	국내 전문가	자문료 : 00원/회×00회×00인=		
	국외 전문가	자문료 : 00원/회×00회×00인= 항공료 : 00원×00인= 체재비 : 00원/회×00회×00인=		
교육훈련	국 내	건		
	국 외	건		
기술정보수집비				
문헌구입비		전공서적 금액 기준 권당 200,000원 * 3권	600,000	
회의장 사용료, 세미나 개최비				
학회·세미나 참가비		암학회 100,000x2=200,000 방사선종양 춘계학회 40,000x5=200,000 방사선종양 추계학회 40,000x5=200,000 간학회 120,000x1=120,000	720,000	
원고료, 통역료, 번역료, 속기료		논문 외부업체 영문교정 의뢰: 논문 분량에 따른 산정 적용 논문 게재료	2,630,000	
기술도입비		기술명 : 도입국 : 금액(원) : 관련세부연구내용 :		
시험, 분석, 검사, 임상시험, 기술정보수집, 특허정보조사 등 연구개발서비스 활용비				
세부과제 조정·관리비		인건비×( )%		
합 계			13,722,727	

(마) 연구과제추진비

(단위 : 원)

구 분	산 정 기 준	금액	비 고
국내 출장여비	국내 출장 1회-연구 책임자, 원급 기준	2,000,000	
시내교통비			
사무용품비	외장하드 2개 * 150,000 토너 및 잉크 3 * 50,000	450,000	
연구환경 유지를 위한 기기비 품의 구입,유지비용 등			
회의비(연구활동비의 회의장 사 용료, 전문가활용비는 제외)	월 1~2회 기준	1,500,000	
식대			
합 계		3,950,000	

(바) 연구수당

(단위 : 원)

구분	산정기준	금액	비고
연구수당	$72,180,000 \times (8.31)\% = (6,000,000)$ 원	6,000,000	
합계			

(사) 위탁연구개발비 : 원

2. 간접비	12,145.454천원
--------	--------------

7. 연구과제의 기술적 위험요소 분석 및 안전관리 대책

<ul style="list-style-type: none"><li>■ 본 과제는 20~50 kV의 방사선치료장비를 이용한 실험을 시행예정이며 방사선 안전기준에 의한 차폐막 및 선량계등을 구비하고 있음.</li><li>■ 연구원의 안전확보를 위해 연구종사자 안전교육을 2회/1년 주기로 시행하고 있으며, 외부 종사자 교육을 년 1회 실시함.(법정필수교육)</li></ul>
--