

직장암의 수술 후 방사선 치료 시 국소 재발의 임상 병리적 예후 인자

원자력의학원 방사선종양학과*, 병리과[†], 외과[‡]

최철원* · 김미숙* · 김민석[†] · 이승숙[†] · 류성렬* · 조철구*
양광모* · 유형준* · 서영석* · 황대용[‡] · 문선미[‡]

목 적: 진행된 직장암의 수술 후 보조적 방사선 치료를 시행한 환자에서 국소 재발한 군의 병리학적 예후 인자를 규명함으로써 향후 치료 방침의 결정에 도움이 되고자 하였다.

대상 및 방법: 1993년 2월부터 2001년 12월까지 원자력의학원에서 수술을 시행한 후 병기 3기 이상으로 방사선치료 및 항암 요법을 시행 받은 직장암 환자 110명을 대상으로 검체를 모두 조사하여 면역조직화학검사가 가능한 총 54명을 대상으로 하였다. 이중 국소전이가 발견된 군이 14명, 발견되지 않은 군이 40명이었다. 이들의 조직 검체를 대상으로 종양의 침윤 깊이, 종양의 조직학적 등급, 임파절 침윤 여부, 혈관 침윤 여부, 신경 침윤 여부 등의 병리적인 특징 및 p53, Ki-67, c-erb, ezrin, c-met, phospho-S6K, S100A4, HIF-1 alpha의 다양한 암 유전자의 발현양상을 단변량 분석 및 다변량 분석, hierarchical clustering 분석 기법을 사용하여 치료 후 예후와 관련된 인자를 찾았다.

결 과: 병리학적 예후 인자 중 단변량 분석상 종양 침윤 깊이, 종양의 등급, 혈관 침범이 의미 있었고 다변량 분석상 침윤의 깊이가 5.5 mm 이하, 혈관 침윤이 없는 경우가 국소 재발이 낮은 군이었다. 면역조직화학검사 결과의 단변량 분석상 c-met 양성, HIF-1 alpha 양성이 국소 재발률이 높은 예후 인자였고 다변량 분석상 c-met이 의미 있는 예후 인자였다. Hierarchical clustering을 통해서 조사한 결과 HIF-1 alpha, c-met 및 종양 침윤 깊이가 국소재발과 관련된 인자로서 국소 재발을 한 군의 71.4%가 3가지 인자 중 2개 이상을 가지고 있는 반면 국소 재발을 하지 않은 군에서는 27.5%가 2개 이상을 가지고 있었다.

결 론: 국소적으로 진행되어 방사선 치료를 시행해야 하는 직장암 환자군 중에서 HIF-1 alpha 양성, c-met 양성, 종양 침윤 깊이 5.5 mm 이상의 병리학적 예후 인자를 두 개 이상 가지는 환자는 국소 재발의 가능성이 높다. 이러한 인자가 방사선치료 저항군의 지표로서 유용한지에 대한 전향적 연구가 향후 필요할 것이다.

핵심용어: 직장암, 국소 재발, 예후 인자, 면역조직화학검사

서 론

직장암에서 완전 절제를 시행한 후 보조적 치료로 방사선치료를 시행하는 적응증은 병기가 T3 이상인 경우 또는 임파절에 종양 침범이 있는 경우 등 국소적으로 진행된 경우이다.^{1,2)} 국소 진행된 직장암에서 수술 후 보조적 방사선 치료를 시행하지 않은 군에서 약 20~40%의 국소 재발률을 보이는 반면 방사선 치료를 시행한 경우에 10~20%의 국소 재발률을 보인다.³⁻⁷⁾ 직장암의 치료 후 국소 재발 시

재발 정도에 따라 다양한 증상이 동반되어 삶의 질을 저하시키고, 생존율도 떨어뜨리게 된다.⁸⁾ 따라서 진행된 직장암을 대상으로 국소 재발률을 줄임과 동시에 생존율을 증가시키기 위하여 방사선 치료를 시행하지만 여전히 국소 재발을 경험하므로 이를 줄이기 위한 노력이 필요하다.

수술 후 방사선치료를 시행함에도 불구하고 국소 재발하는 환자군은 방사선치료에 저항하는 조직학적 특징을 가질 가능성이 높다. 따라서 재발의 가능성이 높은 환자, 즉 방사선 치료 저항군을 조직학적으로 미리 확인할 수 있는 방법이 있다면 최근의 3차원 입체조형 방사선치료와 같은 첨단 치료를 통하여 방사선량을 늘임으로써 재발률을 줄일 수 있거나 또 방사선 민감제 등을 적극적으로 시도할 수 있는 근거가 될 수 있으며, 이러한 인자들을 조절하는 새로운 방사선 민감제의 개발에도 기여할 수 있다. 또한

이 논문은 2006년 9월 27일 접수하여 2006년 11월 20일 채택되었음.
이 연구는 원자력연구개발사업에 의해 지원받았음.
책임저자: 김미숙, 원자력의학원 방사선종양학과
Tel: 02)970-1264, Fax: 02)970-2412
E-mail: mskim@kocch.re.kr

고위험군 환자에서 추적 기간을 단축함으로써 재발을 빨리 발견할 수 있을 것이다.

직장암에서 재발의 예후 인자에 대한 연구가 많이 진행되었고, 최근에는 면역조직화학 검사를 통하여 암 유전자의 발현이 생존율에 미치는 영향에 대한 결과가 보고된 바 있다. 이 중 c-met,⁹⁾ HIF-1 alpha,¹⁰⁾ S100A4가^{11,12)} 직장암에서 생존율과 관련된 인자로 보고되었다. 또한 직장암 외에도 방사선치료의 빈도가 높은 두경부암에 관한 항암치료나 방사선치료에 대한 저항성의 인자를 찾고자 하는 노력이 기울여지고 있으며, 그 중 p53, apoptosis family 및 증식능의 역할에 관여하는 유전자가 비교적 의미를 갖는 것으로 제시되고 있으나 아직 각 연구마다 결과가 상이하여 일정한 결론에 이르지 못하고 있다.^{13,14)}

본 연구는 국소 진행된 직장암의 보조적 방사선 치료 후에 수술 검체의 종양 침윤 깊이, 종양의 등급, 림프관 침윤, 혈관 침윤, 신경 침윤의 소견 등 예후와 관련된 것으로 추정되는 병리 소견 및 면역조직 화학 검사를 통한 암 유전자 발현 양상을 관찰하여 국소 재발과 관련된 예후 인자를 찾고자 하였다. 유전자는 직장암의 생존율과 관련된 것으로 보고된 c-met, HIF-1 alpha, S100A4 및 apoptosis family와 증식능과 관련된 p53, Ki-67, c-erb, 그 외 후보 유전자로 ezrin, phospho-S6K의 발현 양상을 관찰하였다.

직장암에서 면역조직화학검사를 통해 후보 암 유전자의 발현과 생존율에 대한 연구가 많이 진행되었지만 대부분은 한 개의 암 유전자의 발현이 생존율에 영향을 미친다는 보고가 많았다. 따라서 한 개의 암 유전자가 발현함으로써 생존율 또는 국소 재발에 영향을 미친다고 보고되는 연구 간의 공통적인 연계성을 찾기가 어렵기 때문에, 임상적으로 치료 원칙을 바꿀 수 있을 정도의 증거로 받아들이기에는 부족할 수밖에 없다. 이에 이 연구에서는 동일 환자에서 여러 가지 암 유전자의 발현을 동시에 분석하여 모든 변수의 상관관계를 알아보기 위하여 기존의 생존 분석이나 교차 분석 외에 hierarchical clustering을 통한 분석 방법을 추가하였다.

따라서 병리적인 소견과 암 유전자 발현양상을 함께 비교 분석함으로써 각각의 예후 인자가 갖는 임상적 의미뿐 아니라 여러 인자가 함께 발현함으로써 발생하는 고 위험군 환자를 가려낼 수 있으므로 임상에 응용할 수 있는 기초 자료를 제공할 수 있을 것이다.

대상 및 방법

1. 연구대상

1993년 2월부터 2001년 12월까지 원자력의학원에서 복

회음절제술(abdominoperineal resection, APR) 또는 저위전방절제술(low anterior resection, LAR)을 시행한 후 45 Gy 이상의 방사선치료와 항암 요법을 시행 받은 진행된 직장암 환자 중 병기 3기 이상의 환자 110명을 대상으로 보관된 파라핀 검체를 모두 조사하여 파라핀 검체가 존재하여 면역조직 화학 검사가 가능한 총 54명을 대상으로 후향적 분석을 시행하였다. 파라핀 검체가 없거나 모든 면역조직 화학염색 시행하기에 파라핀 검체 양이 부족한 경우 또는 조직 슬라이드가 없는 환자 56명은 연구에서 제외되었다. 추적 기간 중 국소 전이가 발견된 군이 14명이며 국소 재발이 발견되지 않은 군은 모두 40명이었다. 이 두 군 간의 병리조직학적 차이를 보기 위하여 먼저 두 군 간의 병기, 나이 등의 임상적 예후 인자에 차이가 있는지를 살펴보았다. 두 군의 중앙 추적기간은 각각 44 및 46개월이었다.

2. 조직학적 분석

한 명의 병리과 의사가 조직 슬라이드를 광학현미경으로 재검하여 종양의 분화도에 따라 3등급으로 분류하였으며, 혈관 침윤이 있는 경우, 림프관 침윤이 있는 경우, 신경 침윤이 있는 경우를 양성으로 분류하였으며 종양 침윤 깊이는 muscularis propria의 바깥을 0 mm로 기준점으로 하여 정하였다.

3. 면역조직화학염색

Tissue microarray block을 이용하여, p53, Ki-67, Her2/neu, ezrin, HIF-1 alpha, c-met, phosphorylated S6 kinase, S100A4 등 총 9가지 항체를 대상으로 면역조직화학 염색을 시행하였다. 모든 면역조직화학 염색은 위양성과 위음성의 가능성을 줄이기 위하여, western blot을 이용하여 항체의 희석 정도를 결정하였으며, 같은 검체를 이용하여 2번 동일한 염색을 시행하였다.

종양의 대표적인 파라핀 블록에서 3 mm 직경의 core를 뽑아서 국소 재발된 군과 재발되지 않은 군의 tissue microarray block을 자체 제작하였으며, 3 μ m 두께로 박절하여 유리 슬라이드에 조직절편을 얻어 면역염색에 이용하였다. 조직절편의 파라핀을 제거하기 위하여 Xylene에 15분간 담가 둔 후 100%, 95%, 85%, 70%의 에탄올로 수화시켰다. 함수시킨 절편을 citrate buffer [0.01 M, pH 6.0]에 담귀 autoclave 121°C에서 1분간 처리하여 항원의 노출을 유도하였다. 조직절편에 15분간 3% H₂O₂/methanol을 점적하여 내인성 peroxidase를 비활성화시킨 후 일차항체를 각각 western blot과의 비교분석을 통해 정해진 희석배율로 실온에서 1시간 반응시켰다. 0.05% Tween을 포함한 PBS buffer로 세척한 후 biotin이 결합된 이차항체(Zymed, USA) 1 : 50으로

30분간 반응시켰고 수세 후 ABC reagen (Zymed, USA)로 실온에서 30분간 처리하였다. 완충액으로 수세 후 3'3'-diaminobenzidine으로 발색시킨 후 헤마톡실린으로 대조염색하여 봉입하였다.

이후 아래 각 항목의 면역염색의 결과를 양성세포의 양에 따라 2 grading system의 semiquantitative analysis를 하였으며, 그 기준은 다음과 같다.

c-met, prx1, prx2, S100A4는 10% 이상의 종양세포 세포질에 염색된 것을 양성으로 판정하였으며, p53, HIF-1 alpha, p-S6K는 10% 이상의 종양세포 핵에 진하게 염색된 것을 양성으로 판정하였다. ezrin, Her2/neu는 10% 이상의 종양세포 세포막에 진하게 염색된 것을 양성으로 판정하였다. Ki-67의 경우는 1,000개의 종양세포의 핵을 세어 이 중 Ki-67에 양성인 핵의 수를 분율(%)로 나타내었다. Ki-67에 양성인 핵이 20% 이하인 경우를 저증식군, 20%를 넘는 경우를 고증식군으로 분류하였다.

4. 환자의 임상정보 확인 및 통계학적 분석

대상 환자의 임상정보는 차트 재검토(review)를 통해 분석하였다. 통계분석은 Statistical Package for the Social Science (SPSS) 13.0 (Systat, Chicago, USA) 통계프로그램을 이용하였고, p 값이 0.05 미만인 것을 의미 있는 것으로 해석하였다. 국소 재발한 군과 재발하지 않은 군 간의 예후 인자에 따른 분포의 차이를 알기 위한 상관성 검증에는 Chi-square 방법을 사용하였다. 생존분석은 Kaplan-Meier법

을 이용한 단변량분석과 Cox regression method를 이용한 다변량분석을 시행하였다. 여러 예후 인자들의 상관관계를 찾기 위하여 Hierarchical clustering 분석 기법(Cluster 3.0, University of Tokyo, Human Genome Center)을 이용하였다.

결 과

1. 임상 예후 인자의 비교

국소 재발되지 않은 환자군과 국소 재발된 군에서 중간 연령은 각각 53세, 52세, 성별은 남녀의 비가 각각 52 : 48과 50 : 50, 병기는 IIIA, IIIB, IIIC에서 각각 3%, 35%, 62%와 0%, 36%, 64%로 두 군 간의 의미 있는 차이는 없었다 (Table 1). 예후 인자로 두 군 간의 CEA의 차이를 살펴 본 결과 통계학적인 차이는 관찰되지 않았다. 두 군 간의 치료 방법을 분석한 결과 수술의 방법, 방사선치료 선량의 차이 및 항암 화학 요법의 횟수에서 두 군 간의 차이를 보이지 않았다 (Table 2). 전체 환자의 5년 생존율과 5년 국소 제어율은 각각 41.5%, 65.4%였다 재발한 군과 재발하지 않은 군에서 5년 생존율은 각각 35.7% 및 43.4%였다.

2. 조직 병리학적 예후 인자

단변량분석에서는 종양 침윤 깊이가 5.5 mm보다 깊은 경우, 종양의 등급을 1~2 및 3으로 나눈 경우, 혈관 침윤 양성 여부가 국소 재발의 의미 있는 요인이었고 다변량분석에서는 종양 침윤의 깊이와 혈관 침윤이 국소 재발의 의

Table 1. Differences in Characteristics between Local Recurrence and Recurrence free Groups in Rectal Cancer

Patient characteristics	No. of patients (%)		Chi-square (p-value)
	Local recur (-)	Local recur (+)	
Sex			NS*
Male	52	50	
Female	48	50	
Age (years)			NS
≥ 60	25	14	
< 60	75	86	
median age	53	52	
AJCC stage			NS
IIIA	3	0	
IIIB	35	36	
IIIC	62	64	
Pre-op CEA (ng/ml)			NS
≤ 5	47	25	
> 5	53	75	
Median f/u (months)	44	46	

*Statistically not significant

Table 2. Treatment Methods between Local Recurrence and No Local Recurrence Groups in Rectal Cancer

Treatment	No. of patients (%)		Chi-square (p-value)
	Local recur (-)	Local recur (+)	
Operation			NS*
LAR [†]	50	43	
APR [‡]	50	57	
RT dose (Gy)			NS
≥50.4	92	93	
<50.4	8	7	
Cycles of chemotherapy			NS
≥6 cycles	92	86	
<6 cycles	8	14	

*Statistically not significant, [†]low anterior resection, [‡]abdominoperineal resection

Table 3. Pathological Prognostic Factors for Local Control

Prognostic factors	p-value	
	Univariate analysis	Multivariate analysis
Invasion depth (mm)		
≤5.5	0.039	0.036
>5.5		
Histological grade	0.024	NS*
1~2		
3		
Lymphatic invasion	NS	NS
-		
+		
Vein invasion	0.003	0.008
-		
+		
Neural invasion	NS	NS
-		
+		

*Statistically not significant

미 있는 요소였다(Table 3). 침윤 깊이가 5.5 mm는 통계적으로 유의한 차이가 나는 최소 깊이였다. 5년 국소 제어율에서 종양 침윤 깊이가 5.5 mm 이하인 군이 71.3%인 반면, 5.5 mm보다 깊은 경우는 40%였다(Fig. 1). 한편 혈관 침윤이 없는 경우와 있는 경우 5년 국소 제어율은 각각 84.6% 및 19.8%였다(Fig. 2).

3. 면역조직화학염색을 통한 예후 인자

면역조직화학 검사를 시행한 후 단변량 분석에서는 c-met, HiF-1 alpha가 국소 재발에 의미 있는 예후 인자였고 다변량 분석상 c-met만이 의미 있는 요소였다(Table 4). c-met 인자의 양성 유무에 따른 국소 제어율 곡선은 Fig. 3과 같

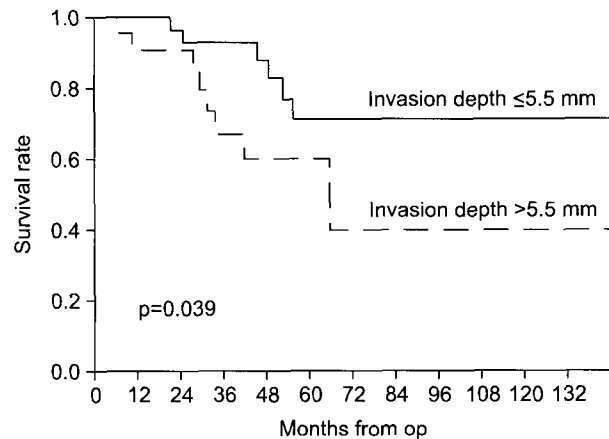


Fig. 1. Local recur free survival for 54 patients with rectal cancer treated with surgery and postoperative radiotherapy according to invasion depth.

다. 그 외에 p53, Ki-67, S100A4는 두 군 간에 발현의 차이를 보이지 않았으며, Her2/neu의 발현은 대장암에서 거의 발견되지 않았다.

4. Hierarchical clustering을 이용한 분석

Hierarchical clustering을 이용한 분석에서 HIF-1 alpha 양성, c-met 양성, 종양 침윤 깊이가 5.5 mm 이상인 경우가 국소 재발과 연관된 인자였다. 즉 국소 재발한 군 중 71.4%가 이 중 2개 이상이 양성인 반면 국소 재발하지 않은 군에서는 27.5%에 불과하였다(Fig. 4). 이 두 군 간의 국소 제어율은 Fig. 5와 같다.

고안 및 결론

직장암으로 직장절제술을 받아 병기 3기의 환자로 술 후

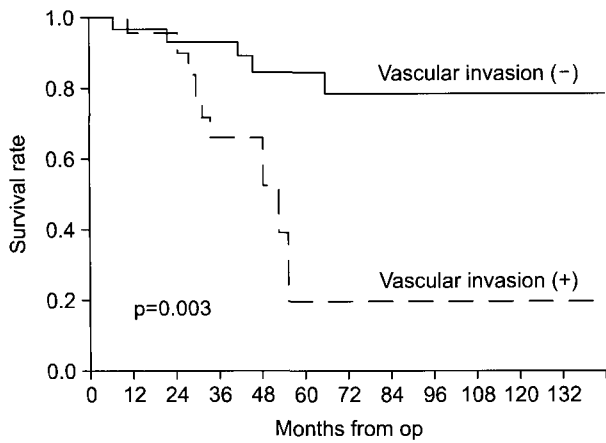


Fig. 2. Local recur free survival curve for 54 patients with rectal cancer treated with surgery and postoperative radiotherapy according to vascular invasion.

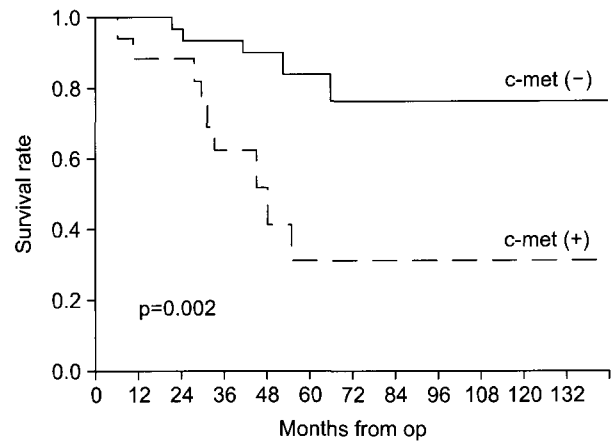


Fig. 3. Local recur free survival curve for 54 patients with rectal cancer treated with surgery and postoperative radiotherapy according to c-met.

Table 4. Immunohistochemical Prognostic Factors for Local Control

Prognostic factors	p-value	
	Univariate analysis	Multivariate analysis
p-53	NS*	NS
-		
+	NS	NS
Ki-67		
-	NS	NS
+		
c-erb	NS	NS
-		
+	NS	NS
Ezrin		
-	0.002	0.023
+		
c-met	NS	NS
-		
+	NS	NS
Phospho-S6K		
-	NS	NS
+		
S100A4	0.014	NS
-		
+		
HIF-1 alpha		
-		
+		

*Statistically not significant

방사선 치료를 받은 54명의 환자를 대상으로 방사선 치료 후 재발한 군과 재발하지 않은 군과의 임상적인 차이는 관찰되지 않았다. 임상에서 가장 중요한 예후 인자인 병기는

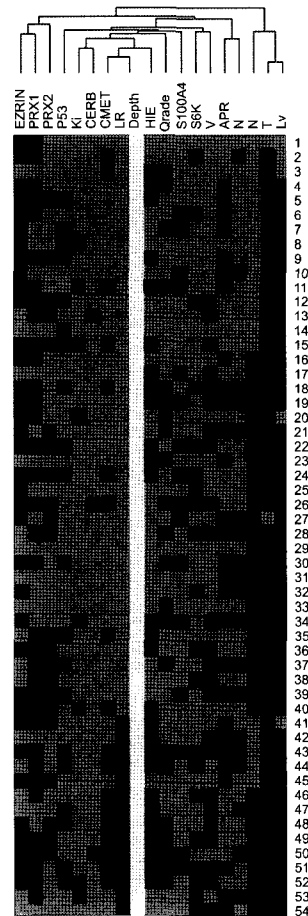


Fig. 4. Hierarchical clustering for 54 patients with rectal cancer treated with surgery and postoperative radiotherapy according to various factors.

본 환자군에서 병기가 모두 3기이기 때문에 차이가 없으며 다만 임파절의 개수 및 원발 병소의 침윤 정도에 따라 구

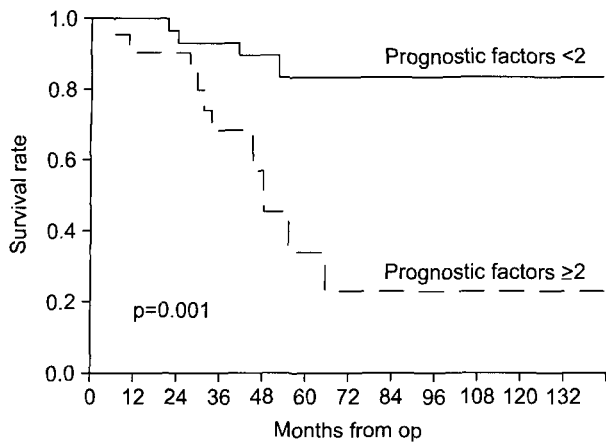


Fig. 5. Differences in local control rate according to number of adverse prognostic factors, which analyzed by hierarchical clustering.

분하는 3기 A, B, C 군의 분포가 재발한 군과 재발하지 않은 두 군 사이에 차이는 관찰되지 않아 방사선치료의 환자군에서 국소 재발의 여부는 병기가 3기인 경우에는 거의 비슷함을 시사한다. CEA가 정상인 군이 국소 재발이 적은 군에서 많은 경향을 보이며 통계학적으로 차이는 보이지 않았지만 영향을 배제할 수는 없을 것으로 보인다.

여러 가지 임상 병리학적인 요인들의 상관관계 및 단변량, 다변량 생존분석을 해 보았을 때 면역조직화학 검사상 HIF-1 alpha, c-met가 양성인 경우에 방사선 치료 후 재발할 가능성이 높은 것으로 분석되었다. 또한 병리조직학적 인자 중에는 종양 침윤의 깊이 및 혈관 침윤이 재발 가능성을 높이는 인자로 작용하였다.

HIF-1 alpha는 종양조직이 허혈 상태에서 높게 발현되는 단백질로 조직의 허혈 상태를 극복하기 위해서 여러 가지 단백질을 합성하는 데 관여하는 전사인자이다. 종양의 허혈 상태는 예전부터 알려진 방사선 치료저항인자로 다양한 암에서 HIF-1 alpha의 발현이 방사선 치료저항성과 연관되어 있다는 보고가 있고, 일반적으로 환자의 예후에도 나쁜 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.^{15~19)} 본 연구에서 HIF-1 alpha의 발현을 조사해 보았을 때, 허혈 상태와 밀접한 관련이 있는 종양의 괴사부위 주변뿐만 아니라, 괴사가 전혀 없는 종양에서도 광범위하게 발현되는 것으로 보아 산소농도와 관련 없이도 HIF-1-alpha가 과발현될 수 있음을 짐작할 수 있었다. 이는 저산소증 이외에 다른 경로를 통해서도 HIF-1 alpha가 과발현될 수 있다는 다른 보고들을 뒷받침하는 소견이다.

HIF-1 alpha가 과발현되었을 때, 저산소증을 극복하기 위하여, 혈관생성인자인 VEGF, 적혈구 생성인자인 erythro-

poietin 등의 여러 가지 단백질의 합성이 유도되지만 이 중에서 특히 c-met의 역할은 종양의 전이와 밀접한 연관성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다. c-met은 hepatocyte growth factor의 수용체로 알려져 있으며, 여러 가지 종양에서 종양세포의 전이에 관여한다.⁹⁾ 본 연구에서는 HIF-1 alpha에 양성인 환자에서만 c-met가 양성으로 나타나 c-met의 발현이 HIF-1 alpha의 발현에 의해 직접적인 영향을 받고 있음을 알 수 있었다.

동일 환자에서 여러 가지 암유전자의 발현을 동시에 분석하려면, 기존의 상관관계 분석만으로는 제한점이 있다. 생존분석이나 교차분석에서는 개별 인자의 영향 또는 두 인자 간의 상관관계만을 확인할 수 있을 뿐이다. 본 연구자는 이러한 문제점을 극복하기 위하여, 이번 연구에서 조사된 모든 변수의 상관관계를 알아보기 위하여, hierarchical clustering을 시행하였다. Clustering 결과에서도 방사선 치료 저항성과 가장 밀접한 연관성을 가지고 있는 인자는 종양 침윤 정도와 c-met, HIF-1 alpha의 발현이 치료저항성에 연관되어 있음을 알 수 있었다. 위 3가지 인자 중 2가지 이상을 가지고 있는 환자가 방사선 치료 반응군에서는 전체 40명 중에서 11명(27.5%)밖에 없는 반면, 방사선 치료 저항군에서는 14명 중 10명(71.4%)에서 발견되었으며, 이를 통해서 방사선 치료 전에 재발의 위험이 높은 환자를 예측할 수 있을 것으로 생각된다.

결론적으로 방사선 치료를 시행한 병기 3 이상의 환자에서는 임상적으로 알려진 T 병기, N 병기 및 CEA 등의 요인이 국소 재발 여부에 큰 의미가 없었다. 따라서 병리학적 요인 또는 면역 염색과 같은 항목을 추가하여 국소 재발 위험군을 선택하는 데 도움이 되도록 할 필요가 있다. 본 연구에서는 종양 침윤의 깊이 5.5 mm 이상, 혈관 침윤이 의미가 있고, 면역화학염색에서는 c-met, HIF-1 alpha가 의미가 있었다. 또한 hierarchical clustering 방법을 통하여 위험요인을 많이 가진 경우의 재발률이 높았다. 따라서 병리 또는 면역화학염색의 한 두 가지 위험요인만으로 임상적으로 예후를 추정하기는 아직 이르지만 이러한 요소들을 많이 가지고 있을수록 재발 가능성이 높아짐을 확인할 수 있었다.

방사선 치료 전에 이러한 위험 요인들을 검사하여 재발할 가능성이 높은 환자를 선별할 수 있다면, 이들 환자를 위한 치료방법을 새롭게 고안하여, 치료성적과 환자의 생존을 향상시킬 가능성이 높다. 특히, 본 연구에서는 밝혀내지 못했던 조직의 저산소증과 그에 따른 HIF-1 alpha 및 c-met pathway의 활성화가 방사선치료 저항군의 중요한 인자로 제시되었기 때문에 이에 대한 연구가 필요할 것으로

생각한다. 또한 임상 적용을 위하여 본 연구에서 밝혀진 예후 인자를 토대로 전향적인 연구를 통해 지표들의 유용성을 검증해 볼 필요성이 있다.

참 고 문 헌

1. NIH consensus conference. Adjuvant therapy for patients with colon and rectal cancer. *JAMA* 1990;264:1444-1450
2. **Minsky BD**. Combined modality therapy of resectable rectal cancer: current approaches. *Tech Coloproctol* 2004;8:67-76
3. **Douglass HO Jr, Moertel CG, Mayer RJ, et al**. Survival after postoperative combination treatment of rectal cancer. *N Engl J Med* 1986;315:1294-1295
4. **Krook JE, Moertel CG, Gunderson LL, et al**. Effective surgical adjuvant therapy for high-risk rectal carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:709-715
5. **Tveit KM, Guldvog I, Hagen S, et al**. Randomized controlled trial of postoperative radiotherapy and short-term time-scheduled 5-fluorouracil against surgery alone in the treatment of Dukes B and C rectal cancer. Norwegian Adjuvant Rectal Cancer Project Group. *Br J Surg* 1997;84:1130-1135
6. **Wolmark N, Wieand HS, Hyams DM, et al**. Randomized trial of postoperative adjuvant chemotherapy with or without radiotherapy for carcinoma of the rectum: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol R-02. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:388-396
7. **Fisher B, Wolmark N, Rockette H, et al**. Postoperative adjuvant chemotherapy or radiation therapy for rectal cancer: results from NSABP protocol R-01. *J Natl Cancer Inst* 1988;80:21-29
8. **Noh JM, Park W, Ahn YC, et al**. Salvage treatment for locally recurrent rectal cancer. *J Korean Soc Ther Radiol Oncol* 2006;24:103-109
9. **Fujita S, Sugano K**. Expression of c-met proto-oncogene in primary colorectal cancer and liver metastases. *Jpn J Clin Oncol* 1997;27:378-383
10. **Lu XG, Xing CG, Feng YZ, Chen J, Deng C**. Clinical significance of immunohistochemical expression of hypoxia-inducible factor-1 α as a prognostic marker in rectal adenocarcinoma. *Clin Colorectal Cancer* 2006;5:350-353
11. **Gongoll S, Peters G, Mengel M, et al**. Prognostic significance of calcium-binding protein S100A4 in colorectal cancer. *Gastroenterology* 2002;123:1478-1484
12. **Hemandas AK, Salto-Tellez M, Maricar SH, Leong AF, Leow CK**. Metastasis-associated protein S100A4—a potential prognostic marker for colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2006; 93:498-503
13. **Haffty BG, Glazer PM**. Molecular markers in clinical radiation oncology. *Oncogene* 2003;22:5915-5925
14. **Koch W, Sidransky D**. Molecular markers of radiation effectiveness in head and neck squamous cell carcinoma. *Semin Radiat Oncol* 2004;14:130-138
15. **Quintero M, Mackenzie N, Brennan PA**. Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) in cancer. *Eur J Surg Oncol* 2004;30:465-468
16. **Bussink J, Kaanders JH, van der Kogel AJ**. Tumor hypoxia at the micro-regional level: clinical relevance and predictive value of exogenous and endogenous hypoxic cell markers. *Radiother Oncol* 2003;67:3-15
17. **Gleadle JM, Ratcliffe PJ**. Hypoxia and the regulation of gene expression. *Mol Med Today* 1998;4:122-129
18. **Semenza GL**. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol* 2000;88:1474-1480
19. **Semenza GL**. Hypoxia, clonal selection, and the role of HIF-1 in tumor progression. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2000;35:71-103

— Abstract —

The Clinicopathological Factors That Determine a Local Recurrence of Rectal Cancers That Have Been Treated with Surgery and Chemoradiotherapy

Chul-Won Choi, M.D.*, Mi-Sook Kim, M.D.*, Min-Suk Kim, M.D.[†], Seung-Sook Lee, M.D.[†], Seong-Yul Yoo, M.D.*, Chul-Koo Cho, M.D.*, Kwang-Mo Yang, M.D.*, Hyung-Jun Yoo, M.D.*, Young-Seok Seo, M.D.*, Dae-Yong Hwang, M.D.[†] and Sun-Mi Moon, M.D.[†]

Departments of *Radiation Oncology, [†]Pathology, [†]Surgery,
Korea Institute of Radiological and Medical Sciences, Seoul, Korea

Purpose: To evaluate the pathological prognostic factors related to local recurrence after radical surgery and adjuvant radiation therapy in advanced rectal cancer.

Materials and Methods: Fifty-four patients with advanced rectal cancer who were treated with radical surgery followed by adjuvant radiotherapy and chemotherapy between February 1993 and December 2001 were enrolled in this study. Among these patients, 14 patients experienced local recurrence. Tissue specimens of the patients were obtained to determine pathologic parameters such as histological grade, depth of invasion, venous invasion, lymphatic invasion, neural invasion and immunohistopathological analysis for expression of p53, Ki-67, c-erb, ezrin, c-met, phosphorylated S6 kinase, S100A4, and HIF-1 alpha. The correlation of these parameters with the tumor response to radiotherapy was statistically analyzed using the chi-square test, multivariate analysis, and the hierarchical clustering method.

Results: In univariate analysis, the histological tumor grade, venous invasion, invasion depth of the tumor and the over expression of c-met and HIF-1 alpha were accompanied with radioresistance that was found to be statistically significant. In multivariate analysis, venous invasion, invasion depth of tumor and over expression of c-met were also accompanied with radioresistance that was found to be statistically significant. By analysis with hierarchical clustering, the invasion depth of the tumor, and the over expression of c-met and HIF-1 alpha were factors found to be related to local recurrence. Whereas 71.4% of patients with local recurrence had 2 or more these factors, only 27.5% of patients without local recurrence had 2 or more of these factors.

Conclusion: In advanced rectal cancer patients treated by radical surgery and adjuvant chemo-radiation therapy, the poor prognostic factors found to be related to local recurrence were HIF-1 alpha positive, c-met positive, and an invasion depth more than 5.5 mm. A prospective study is necessary to confirm whether these factors would be useful clinical parameters to measure and predict a radio-resistance group of patients.

Key Words: Rectal cancer, Local recurrence, Prognostic factor, Immunohistochemical analysis