

계획서 요약

연구제목	(국문) 암화과정에서 Microbiome-Host factor-Environment 상호작용의 규명을 위한 환자대조군 연구: 위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암 을 중심으로				
	(영문) Complex link between microbiota, tumor characteristics host, and environment in carcinogenesis: gastric cancer, colorectal cancer, urinary cancer, pancreatic cancer, Head & neck cancer, oral cancer, cervical cancer, and endometrial cancer, lung cancer, esophageal cancer				
국립암센터 연구관련자	역할구분	소속	성명	동의과정참여여부 연구에 대한 설명	동의과정참여여부 동의서 서명
	책임연구자	암역학예방연구부	김미경	✓	✓
	공동연구자	간담도췌장암센터	박상재	✓	✓
	공동연구자	간담도췌장암센터	이우진	✓	✓
	공동연구자	간담도췌장암센터	우상명	✓	✓
	공동연구자	간담도췌장암센터	한성식	✓	✓
	공동연구자	간담도췌장암센터	전중원	✓	✓
	공동연구자	자궁난소암센터	서상수	✓	✓
	공동연구자	구강종양클리닉	최성원	✓	✓
	공동연구자	구강종양클리닉	박주용	✓	✓
	공동연구자	위암센터	최일주	✓	✓
	공동연구자	위암센터	김영일	✓	✓
	공동연구자	위암센터	엄방울	✓	✓
	공동연구자	위암센터	류근원	✓	✓
	공동연구자	두경부종양클리닉	정유석	✓	✓
	공동연구자	두경부종양클리닉	최원영	✓	✓
	공동연구자	회귀암센터	송기훈	✓	✓
	공동연구자	갑상선암센터	석준길	✓	✓
	공동연구자	대장암센터	김병창	✓	✓
	공동연구자	비뇨기암센터	서호경	✓	✓
	공동연구자	비뇨기암센터	정진수	✓	✓
	공동연구자	비뇨기암센터	이형호	✓	✓
	공동연구자	폐암센터	이영주	✓	✓
	공동연구자	암예방검진센터	명승권	✓	✓
	연구담당자	암역학예방연구부	박진희	✓	✓

공동연구기관	■ 해당사항없음
연구목적	<ul style="list-style-type: none"> 1차 연구목적: 암(위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암) 발생에서 공생미생물의 종류 및 relative abundance 양상을 파악하고 호스트요인, 환경적 위험인자(diet, 생활습관)와의 관련성을 탐색 2차 연구목적: 암화 과정에서 환경적 인자와 공생미생물과의 상호작용을 탐색 관찰
연구배경	<ul style="list-style-type: none"> 인체 공생미생물 연구 <ul style="list-style-type: none"> 인체 공생미생물 조성 변화가 여러 질병과 연계되어 있다는 연구결과들이 최근 에 매우 많이 보고됨. 미국에서는 공생미생물과 질병과의 관계를 연구하는 여러 프로젝트를 수행 중임. 세계 여러 연구팀에서 공생미생물과 암과의 연관성을 찾고자 하는 연구가 시도되고 있음 암의 발병단계에 대한 접근 (발생원인적 측면) 뿐 아니라 암의 치료 즉, 암의 예후와의 관련성에 대한 연구도 대장암, 위암, 비뇨기암, 두경부암, 구강암, 췌장암, 폐암, 식도암 등 여러 부위의 암에서 진행되고 있음. 공생미생물 조성 연구에서 기능 연구로의 도약 필요 <ul style="list-style-type: none"> 미생물 군집 분석만으로는 미생물이 질환에 미치는 병리적 역할을 규명하기 곤란. 미생물 군집 내의 생물학적인 기능에 대한 직접적인 정보를 얻기 위해서는 미생물의 전체 유전자에 대한 염기서열분석을 통해 미생물의 유전적 잠재성을 조사해야 함. 공생미생물과 면역과의 관련성 <ul style="list-style-type: none"> 인체에 많은 미생물이 공생하며 복잡한 시스템을 이루고 있기 때문에 면역 체계와 미생물이 상호작용을 통해 면역 시스템을 이루고 있다는 개념으로 확장되고 있음. 마이크로바이옴이 제대로 형성되지 않거나 균형이 깨지면 면역학적 반응이 이루어지지 않거나 정작되지 않아 여러 가지 질병이 발생할 가능성이 높다는 것이 밝혀지고 있음. 암의 치료, 진단, 예후, 모니터링을 위한 공생미생물 생체지표 연구의 기초 자료 필요 <ul style="list-style-type: none"> 공생미생물 생체지표 후보가 탐색되어야 하며, 이를 위해서는 공생미생물과 암과의 인과 관계, 생물학적 역할, 기전 등이 과학적으로 규명된 연구가 필요함. 면역시스템과 관련하여 구강암의 예후를 예측할 수 있는 마커가 아직 많지 않고, 연구결과가 일관되지 않음.

선행연구결과	□무 ■유 Cervical microbiome과 대사체 분석을 통해 CIN 및 자궁경부암의 암화과정에서의 host-microbe 상호작용을 규명하였음 (IRB No. NCC2016-0147)
연구설계개요	<ul style="list-style-type: none"> 연구디자인: 설문조사 연구, 환자 대조군 연구, 전향적 연구 연구 참여 기간: 2019년 IRB 승인일로부터 2025년까지 6년 동안 참여 자료수집기간: 6년 총 연구예정 기간: 6년
자료수집항목 및 임상검사항목	1) 역학적(생활습관) 특성 2) 신체계측 3) 식품섭취 조사 4) 임상적 양상 및 임상경과 조사 5) 혈액, 타액, 대변 또는 rectal swab, 소변, 자궁경부세포(cervical swab), oral swab, 조직(원발 혹은 전이병소 조직) 채취 6) 성별, 나이, 입원일, 퇴원일, 혈액형, BMI, 교육수준, 직업, 결혼여부, 소득수준, 성관계, 출산여부, 유산여부, 월경, 흡연, 음주, 가족력
연구참여조건	■입원환자 ■외래환자 □지역주민 □기타
선정기준	<ul style="list-style-type: none"> 환자군 :2019년 IRB승인일 이후부터 2025년까지 국립암센터에 내원한 위암, 대장암, 유전성암(린치증후군, FAP), 비뇨기암, 췌장암, 두경부암(인두암, 후두암, 비부비동암, 편도암, 갑상선암), 구강암, 자궁경부암(ASCUS, CIN1, CIN2, CIN3, CIS, Cervical cancer로 진단), 자궁내막암, 폐암 ,식도암 환자 중에서 연구 참여에 동의한 대상자. 대조군 : 2019년 IRB승인일 이후부터 2025년까지 국립암센터 검진센터 및 외래에 방문한 암이 없는 건강인으로 연구 참여에 동의한 대상자와 유전성암 환자의 가족 중에 암 발생하지 않은 연구에 동의한 대상자. 환자군과 연령(± 2세), 성별, 등재 시기 등을 매칭하여 모집함.
제외기준	<ul style="list-style-type: none"> 만 18세 미만의 미성년자 제외 위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암 환자의 경우 만 75세 이상의 고령자 제외 암 과거력이 있는 대상자
탈락기준	동의 철회
연구방법	<ul style="list-style-type: none"> 의생명연구심의를위원회 심의: 본 연구의 환자 모집 방법, 조사 내용, 연구 참여자의 권리 등 연구 전반에 관한 윤리적 검토를 받음. 고지된 동의서 문구에 대한 심의를 받음. 임상적 양상 및 임상경과 조사: 암환자에 대해 임상양상, 임파선전이, 병기, 조직 분화도 등급의 차이, 혈관림프관침윤 차이, 치료 방법 등 조사. 위암환자군에 대해서는 <i>H. pylori</i> 감염여부, 췌장암/두경부암 환자군에 대해서는 HPV 감염여부를 추

	가 조사 <ul style="list-style-type: none"> 설문조사 수행시 타액을 확보함. 채취시 1시간 이상 음식, 음료를 섭취하지 않거나 구강양치를 하지 않도록 주의시키며 비자극 타액을 약 5ml를 채취함. 연구용 혈액은 8ml EDTA tube에 받음. 대변샘플은 자가에서 시행 후 약 4g을 멸균통에 담아 제출하도록 함. 연구대상자는 소변 30ml 취득함.대변샘플 채득이 어려운 경우 rectal swab 1회(2bottle) 채취함. 자궁암 관련 대상자는 cervical swab 1회(2bottle) 채취함. 구강암과 두경부암 관련 대상자는 oral swab 두 볼 1회(2bottle), primary 1회(2bottle) 채취함. 위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 구강암, 두경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암 관련 대상자는 수술 시 원발 혹은 전이병소 조직 약 200mg을 채취함. 채취한 각 샘플은 프로토콜에 따라 냉동보관함. 16S rRNA pyrosequencing을 이용한 microbiome 분석 대사체 분석: UPLC/Q-TOF mass를 이용한 global profiling 분석, UHPLC/triple quadrupole mass를 이용한 targeted profiling 분석 식사염증지표 (Dietary Inflammation Index, DII®): 식품섭취빈도조사지를 이용하여 측정된 45개 식품군에 대하여 Shivappa N & Hebert J 등이 개발한 방법을 이용하여 계산 High-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) : turbidimetric assay method (ADVIA 1650 and ADVIA 1800; Siemens Healthineers)를 이용하여 측정. 면역형광법에 의한 다중염색(Immunofluorescence-based multiplex staining) : 환자의 FFPE(파라핀블럭) 슬라이드를 IHC를 수행하여 종양내로 침투한 면역세포를 분석.
중재방법	■해당사항없음
평가기준	<ul style="list-style-type: none"> 구강(또는 장 자궁) 공생미생물의 16S rRNA pyrosequencing을 이용한 microbiome 분석: 16S ribosomal RNA 분석: 종에 따른 미생물들을 구분하기 위하여 16S rRNA의 hypervariable regions에 타겟으로 하는 primer를 제작하여 NGS를 이용하여 sequencing함. Quality Control과 Chimera check이 끝난 sequence를 사용하며 마이크로바이옴에 어떤 미생물이 존재 하는지 알아보기 위한 Taxonomy분석은 RDP classifier를 이용하여 진행함(Wang et al. (2007) Appl Environ Microbiol.). 그리고 QIIME pipeline을 이용하여 Operational taxonomic unit(OTU)이라는 미생물 종 분석단위를 만들고 계통구조 분석 및 다양성 분석을 하여 인체내에 존재하는 미생물 커뮤니티 분석을 진행함. 16S rRNA 유전자를 기반으로 미생물의 기능(function)을 예측하는 분석 소프트웨어인 PICRUSt 를 이용하여 KEGG pathway 등 예측함. 미생물 커뮤니티 분석은, 알파 혹은 베타 다양성 지수를 이용하여 환자와 대조군 사이에 차이가 있는지 wilcoxon rank-sum test, kruskal-wallis test, PCoA 분석

	<p>을 통해 알아냄.</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ 각각의 미생물들 중, 어떤 미생물이 암화과정에 영향을 미치는지 wilcoxon rank-sum test, kruskal-wallis test를 통해 선택하고, 그 선택된 미생물이 암화에 미치는 위험도를 Odds Ratio로 측정함. ■ PICRUST를 이용하여 미생물에서 예측한 function인 KEGG pathway, KEGG ortholog 중 어떤 것들이 암화과정에 영향을 미치는지 wilcoxon rank-sum test, kruskal-wallis test를 통해 확인함. ■ microbiome-host-environment 상호작용 분석을 spearman correlation analysis를 통해 연관성을 확인하고 network analysis를 통해 표현함. ■ 생물정보학 기술을 이용하여 이미 알려진 군집 분석, 새로운 군집 분석, 각 종 내에서의 미생물 구조, 높게 발현되는 단백질 도메인 분석, 특정 유전자에 상응하는 단백질 도메인, 단백질 대사 경로 등을 wilcoxon rank-sum test, kruskal-wallis test로 알아냄. ■ 통계적 해석에서 유의하다고 판단되는 $p < 0.05$를 기준으로 분석이 수행될 것이며, 모든 결과는 생물학적인 해석을 하여 암화과정을 좀더 분명하게 할 것임.
연구대상자수 (사례수)	<ul style="list-style-type: none"> ■ 환자군 : 2019년 IRB승인일 이후부터 2025년(모집기간 6년)동안 위암, 대장암, 유전성암(린치증후군, FAP), 비뇨기암, 췌장암, 두경부암(인두암, 후두암, 비부비동암, 편도암, 갑상선암), 구강암, 자궁경부암(ASCUS, CIN1, CIN2, CIN3, CIS, Cervical cancer로 진단), 자궁내막암, 폐암 및 식도암 환자로 진단되고 연구 참여에 동의한 대상자 총 1935명. 1년 동안 모집 될 위암 환자 100명, 대장암 환자 50명, 유전성암 환자 15명(린치증후군 10명+FAP 3~5명), 비뇨기암 환자 100명, 췌장암 환자 100명, 두경부암 환자(인두암, 후두암, 비부비동암, 편도암, 갑상선암) 50명, 구강암 환자 100명, 자궁경부암 환자 50명, 자궁내막암 환자 50명, 폐암 및 식도암 30명으로 총 645명. 전체 모집기간 6년 동안 모집 될 위암 환자 300명, 대장암 환자 150명, 유전성암 환자 45명, 비뇨기암 환자 300명, 췌장암 환자 300명, 두경부암 환자 150명, 구강암 환자 300명, 자궁경부암 환자 150명, 자궁내막암 환자 150명, 폐암 및 식도암 90명 으로 총 1935명을 모집할 것으로 계획. ■ 대조군 : 2019년 IRB승인일 이후부터 2025년(모집기간 6년)동안 국립암센터 검진센터 및 외래를 방문한 암이 없는 건강인으로 연구 참여에 동의한 대상자와 유전성암환자의 가족 중에 암 발생하지 않은 연구에 동의한 대상자 총 1545명. 환자군과의 비교성을 높이기 위하여 환자군의 특성(성별, 연령, 모집시기 등)을 고려하여 선정. 모집기간 1년 동안 모집 될 대조군은 총 515명 . 전체 모집기간 6년 동안 모집 될 대조군은 총 1545명 을 모집할 것으로 계획. ■ 본 연구는 가설 검정을 위한 연구가 아닌 탐색적 연구로 암화과정에서 Microbiome-Host factor-Environment 상호작용의 규명을 위한 환자-대조군 연

	<p>구인. 즉, 인체 공생 미생물과 암과의 연관성을 찾으려는 연구이며, 미생물의 유전적 잠재성을 조사하여 미생물 군집 내의 생물학적 기능의 정보를 얻으려고 함. 그러기 위해서 먼저 공생미생물 생체지표 후보가 탐색되어야 하며, 이를 위해서 공생미생물과 암과의 인과 관계, 생물학적 역할, 기전 등 연구를 필요로 함. 미생물이 암화 과정에 참여한다는 것은 알려진 사실이며, 차이가 있는 미생물은 무엇이며, 어떤 미생물이 관여하는 것인지에 대한 연구는 미생물과 암의 연관성을 조사하기 위한 초기 연구로 볼 수 있음. 3,480명의 연구대상자는 10개의 암에서 합쳐진 연구대상자이며 각각의 암에서 미생물과의 관련성은 다르기 때문에, 10개의 암에서 각각의 기초 연구들이 수행되어야 함. 최근에 보고된 연구를 참조하여 연구대상자 수를 고려함. 참조 문헌과, 10개의 암환자 모집을 수행할 각각의 센터 공동연구자들과 회의 후에 연구대상자 수를 결정함.</p>
통계적 고려	<ul style="list-style-type: none"> ■ 각 암종(위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암)에 따른 공생미생물의 종류 및 relative abundance 양상을 파악하고 호스트요인, 환경적 위험인자(diet, 생활습관)와의 관련성을 탐색 ■ 공생미생물간의 overview를 보기위해 Principal component analysis (PCA) 수행 ■ 공생미생물의 암종간 분포의 분석은 Kruskal-Wallis 및 chi-square 검정을 수행 ■ 생물정보학적 데이터 분석: 공생미생물의 각 클러스터의 대표적인 서열은 EzTaxon-e (species type stanins의 16S rRNA 유전자의 시퀀스를 포함하는 공개 데이터베이스)를 사용하며, 배양되지 않은 시퀀스의 분류학적 위치가 BLASTN 결과 중 가장 높은 pairwise 유사성을 사용하여 확인. Chimeric 시퀀스는 UCHIME 알고리즘에 의해 검출/제거하고, reference 데이터베이스에서 2개의 parent 시퀀스와 query 시퀀스의 정렬에 따라 chimeric 시퀀스를 검출하고, MOTHUR 프로그램을 사용하여 다양성 지수를 계산. 파이로시퀀싱 reads는 EMBL SRA 데이터베이스 (http://www.ebi.ac.uk/ena/data/view/PRJEB5760)를 이용 ■ Heat-map 분석은 MULTI-EXPERIMENT VIEWER를 사용하여 수행 ■ CytoScape를 이용하여 생물학적 패스웨이 네트워크(biological pathway network) 분석: 상호작용은 nodes (유전자 또는 단백질) 와 edges (간접적 네트워크) 나 arcs (직접적인 네트워크)로 표현되며, 네트워크의 위상 (topology)은 네트워크의 구조와 형성을 이해하는 중요한 역할을 함. 위상적인 특징을 알기 위해서 주로 사용되는 용어는 degree (한 꼭지점에 연결된 수), clustering coefficient (꼭지점 사이에 연결된 수), shortest path length (두 꼭지점 사이의 거리), betweenness (꼭지점들의 모든 쌍 사이에 가장 짧은 거리 부분)등을 사용함. ■ 면역형광법에 의한 다중염색 (Immunofluorescence-based multiplex staining) : 파라핀 블록을 4mm 두께로 잘라서 PerkinElmer Opal 7 solid tumour immunology kit를 이용하여 염색하고, 슬라이드를 PerkinElmer Polaris를 이용하

	<p>여 scan 한 후, 확보한 이미지를 inForm software (PerkinElmer, Hopkinton, MA)로 분석함(#1). CD20, CD4, CD8, CD68, PD-L1, forkhead box P3 (foxP3) 항체를 이용하여 6가지의 tumour-infiltrating immune cells (CD20+ B cells, CD4+ T cells, CD8+ T cells, CD68+ macrophages, and foxP3+ regulatory T cells)의 density(cells/mm2)을 측정. Anti-cytokeratin (CK) 항체와 4',6-Diamidino-2-Phenylindole (DAPI)는 tumour cell identifications을 위해 사용함. 환자의 FFPE 슬라이드를 IHC를 수행하여 종양내로 침투한 면역세포를 분석.</p>
인체유래물 (검체) 연구	<p><input type="checkbox"/>해당사항없음</p> <p>- 인체유래물 연구목적: 암(위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암)의 공생미생물의 종류 및 상대적 분포 양상을 파악하고 혈액내 염증지표 분석</p> <p>- 인체유래물 수집 및 보관 여부: <input checked="" type="checkbox"/>예 <input type="checkbox"/>아니오</p> <p>- 수집 및 보관되는 인체유래물 종류: 혈액, 타액, 소변, 대변 또는 rectal swab, 자궁경부세포(cervical swab), oral swab, 조직(원발 혹은 전이병소 조직), 수집되는 인체유래물이 모두 수집되지 않아도 연구진행에 영향을 미치지 않음. 수집 되어진 인체유래물에서 연구 진행 함.</p> <p>- 유전 정보 사용여부: <input checked="" type="checkbox"/>미사용 <input type="checkbox"/>사용</p> <p>- 보관 및 관리방안: 채취된 검체는 보관 용기에 담겨 연구실로 이동되며, 타액, 소변, 대변, rectal swab, 자궁경부세포, oral swab는 적정용량으로 분주되어 보관되며, 혈액은 조성분대로 원심 분리된 후 분주되어 보관됨. 조직은 PBS로 세척하여, 새로운 PBS에 적정량 분주되어 보관됨. 모두 냉동고(-70도 이하)에 보관할 것이며, 냉동고 위치 및 샘플 보관 위치를 문서로 작성 (샘플박스파일이 따로 있음)하여 관리. 수집된 검체는 연구대상자의 이니셜과 배정된 식별 번호만 기재되어 분석, 관리, 보관될 것임. 검체 관리 및 분석자는 라벨링된 정보 이외에 다른 연구 정보에 접근이 불가능하며, 검체 분석결과는 등록된 연구자에게만 열람이 허용될 것임. 언제라도 연구 담당자에게 통보하여 동의를 취소할 수 있으며 동의 철회시 본 연구의 목적으로 얻어진 인체유래물은 폐기됨</p> <p>- 보존기간: 연구대상자가 동의한 보존기간까지 보관 후 즉시 폐기</p> <p>- 폐기시점 및 폐기방안: 연구대상자가 동의한 보존기간까지 보관 후 즉시 폐기. 연구가 비정상적으로 종료(중단) 될 경우 폐기하지 않음. 동의 철회시 「폐기물관리법」 제13조에 따른 기준 및 방법에 따라 폐기함.</p> <p>- 인체유래물연구동의서 취득 : <input checked="" type="checkbox"/>새로 취득 <input type="checkbox"/>기 취득된 동의서의 포괄 동의 확인 <input type="checkbox"/>모두 해당</p>
수집된 자료의 2차 사용 계획	<p>-있음. 본 연구와 유사한 연구 또는 포괄적 연구 목적으로 검체를 제공하는 것에 동의한 대상자의 자료의 2차 사용.</p>

여부	<p><input type="checkbox"/>해당사항없음</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>개인식별정보를 포함한 개인정보 사용</p> <p><input type="checkbox"/>개인식별정보를 제외한 개인정보 사용</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>검체 사용</p>
연구대상자 안전 보호에 대한 대책 (모니터링 계획)	<p>- 안전성 데이터를 모니터링 방법(이상반응 모니터링 방법) : 임상시험 연구 아님(해당사항 없음)</p> <p>- 연구 수행을 모니터링하고 점검하는 방법 제시(시행주체 및 방법) : 연구담당자는 한달에 한번씩 수집된 자료를 점검하고 계획서대로 잘 수행되고 있는지 모니터링하고 정기연구회의(최소 월1회) 시간에 보고함.</p>
윤리적 고려 사항	<p>- 취약한 연구대상자의 보호방안 <input checked="" type="checkbox"/>해당사항없음</p> <p>- 개인식별정보를 포함한 개인정보 이용 방안</p> <p>1) 수집하는 개인식별정보 종류-환자등록번호, 성명, 전화번호, 주소, 수집하는 개인정보종류- 성별, 나이, 혈액형, 신장, 체중, BMI, 진단명, 수술력, 병력, 치료력, 과거력, 가족력, 재발, 교육수준, 직업, 결혼여부, 소득수준, 성관계, 출산여부, 유산여부, 월경, 흡연, 음주, 생활습관, 식품섭취</p> <p>2) 개인 (식별) 정보를 수집하는 목적: 임상결과수집 및 식품영양조사 결과지 송부</p> <p>3) 정보 보유기간: 수집한 자료는 연구종료 후 10년간 보관후 폐기함.</p> <p>4) 정보 폐기방법: 출력문서인 경우 문서파쇄기를 통한 폐기하고 전산파일의 경우 복구 불가능한 상태로 파일 삭제함.</p> <p>5) 정보 2차사용 여부: 본 연구를 위하여 사용하는 목적 이외에 대상자가 2차적 사용을 동의한 경우는 본 연구와 유사한 연구 또는 포괄적 연구 목적으로 사용을 하나 2차적 사용에 동의하지 않으면 다른 목적으로 활용하지 않을 것임. 피험자가 원하는 기간까지 보관 후 즉시 폐기를 원칙으로 하고 검체 관리 및 분석자는 라벨링된 정보 이외에 다른 연구 정보에 접근이 불가능하며, 검체 분석결과는 등록된 연구자에게만 열람이 허용될 것임. 채취된 검체가 2차 사용될 경우, 수집된 개인 (식별) 정보도 이용. 연구과일에 접근할 수 있는 권한은 일부 연구원(암역학예방연구부 김미경, 박진희)으로 제한. 연구대상자 동의 철회 시 본 연구의 목적으로 얻어진 검체 및 정보는 폐기될 것임.</p> <p>6) 본 연구에 사용되는 자료는 2019년 IRB 승인일 이후 국립암센터에 내원하여 검사를 받고, 자료 제공에 동의를 한 대상자 정보 및 검체를 이용하여 이루어짐. 본 연구결과는 환자에게 전혀 영향을 주지 않으며, 어떤 임상적 중재도 이루어지지 않으므로 일반적으로 임상연구에서 발생할 수 있는 윤리적인 측면이 문제가 되지 않을 것으로 판단됨. 또한, 본 연구의 모든 자료는 엄격하게 연구대상자의 비밀이 유지되어 보호를 받게 되며, 본 연구의 분석을 위해 제공되는 설문과 검사의 결과는 연구 목적 외에는 다른 용도로 사용하지 않으며, 절대 비밀이 보장될 수 있도록 조치하고자 함.</p> <p>- 연구대상자의 보호방안 및 개인정보 비밀보장 방안</p>

	<p>1) 개인식별정보를 최대한 신속하게 제거할 수 있도록 자체연구번호를 만들어 관리할 계획.</p> <p>2) 개인식별정보와 연구번호를 대조할 수 있는 원본은 따로 보관하고, 그 이후의 작업 파일들은 연구번호로만 인식 가능하도록 함.</p> <p>3) 개인식별정보가 기재된 서류는 잠금장치가 내장된 서류함에 보관되며, 개인식별정보가 기재된 전자 파일은 암호화 되어 관리함.</p> <p>4) 암호화된 파일에 접근할 수 있는 사람은 본 연구에 직접 관련된 연구자들로 제한하여 엄격히 관리할 것임.</p> <p>－ 피해보상방안 : 해당 없음</p> <p>－ 연구대상자에 대한 지원 사항</p> <p>각 관련 센터(위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암)에 내원하는 환자의 경우 지원 없음. 검진센터를 방문하여 공단검진을 시행하는 사람들 중에서 연구 참여에 동의한 연구대상자에 한하여 동맥경화도, 후두경, 골밀도 검사 중 대상자가 원하는 것 한가지를 택하여 1회 제공함. 연구기간 내(2025-12-31까지)에 검사가 이루어지며 검사 시행장소는 국립암센터 암예방검진센터이며 병원장비를 사용함. 검사 비용은 연구비(총괄과제1910180-1, 세부과제1910181-1, 1910182-1, 1910183-1)로 매달 정산되며, 연구대상자가 추가로 지불할 비용은 없음.</p> <p>－ 연구대상자가 연구 참여 시 발생하는 추가 비용 : <input checked="" type="checkbox"/>없음 <input type="checkbox"/>있음</p> <p>－ 동의서, 설문지 등의 서류 및 데이터 관리 방안</p> <p>1) 연구를 위해 수집된 동의서, 설문지 등의 서류 및 데이터 정보는 잠금장치가 있는 연구실에 비밀번호가 걸린 파일로 보관함을 명시.</p> <p>2) 연구파일에 접근할 수 있는 권한은 일부 연구원(암역학예방연구부 김미경, 박진희)으로 제한함.</p> <p>3) 수집된 개인정보는 동의 후 10년 간 연구 관계자의 관할 하에 보유될 예정이며, 보유 기간 동안은 잠금 장치로 엄격히 관리될 것임.</p> <p>4) 보유 기간 이후 전산 기록은 파일 삭제로, 서류에 기록된 개인정보는 서류 폐기 기계를 이용하여 삭제될 것임.</p> <p>5) 개인식별 정보가 기재된 서류는 잠금장치가 내장된 서류함에 보관되며, 개인식별 정보가 기재된 전자 파일은 암호화 되어 관리함. 암호화된 파일에 접근할 수 있는 사람은 본 연구에 직접 관련된 연구자들로 제한하여 엄격히 관리할 것임.</p>
--	---

※ '개인식별정보'란 연구대상자의 성명·주민등록번호 등 개인을 식별할 수 있는 정보를 말한다.

'개인정보'란 개인식별정보, 유전정보 또는 건강에 관한 정보 등 개인에 관한 정보를 말한다.

목 차

연구계획서 요약	-----
연구계획서 본문	
1. 연구배경	-----
2. 연구목적	-----
3. 연구디자인	-----
4. 연구대상자	-----
5. 연구흐름도	-----
6. 연구대상자모집	-----
7. 연구평가 및 효과평가	-----
8. 연구방법	-----
9. 통계적 방법	-----
10. 중간분석	-----
11. 안전성	-----
12. 윤리적 고려	-----
13. 참고문헌	-----

List of Abbreviation

1. Background 연구배경

1) 인체 공생미생물 연구

- 공생미생물은 인체 건강 유지에 필수 요소이며, 영양분 흡수 및 식품의 영양소 전환, 비타민 합성, 외부 침입자에 면역 체계 조절, 병원성 미생물에 대한 항염증성 물질 생성, 약물대사 조절, 뇌/행동 조절 등 매우 여러 가지 기능을 하는 것으로 알려지고 있으며, 인체 공생미생물 조성 변화가 여러 질병과 연계되어 있다는 연구결과들이 최근에 매우 많이 보고됨.
- 공생미생물과 질병과의 관계를 포괄적으로 이해하고자, 2008년 미국 NIH에서는 The Human Microbiome Project (HMP): Stage 1를 수행하였고 (NIH Roadmap for Medical Research Human Microbiome Project. <http://nihroadmap.nih.gov/hmp/>), 현재 주요 신체 부위 (장관, 심장, 간, 코, 구강, 피부, 여성생식기, 뼈, 혈액 등)의 공생미생물 Reference genomes 정보를 제공하고 있으며, 공생미생물과 질병과의 관계를 보여주기 위한 15개의 프로젝트(Stage 2)를 수행 중임.

2) 세계 여러 연구팀에서 공생미생물과 암과의 연관성을 찾고자 하는 연구가 시도되고 있음

- 현재는 매우 다양한 질환에 대한 공생미생물 연구가 진행중에 있는데, 특히 암에 대한 연구가 다양하고 광범위하게 이루어지고 있음. 암의 발병단계에 대한 접근 (발생원인적 측면) 뿐 아니라 암의 치료 즉, 암의 예후와의 관련성에 대한 연구도 대장암, 위암, 비뇨기암, 두경부암, 구강암, 췌장암 등 여러 부위의 암에서 진행되고 있음 (Genome Research 2011; Hum Mol Genet 2012; PNAS 2014; Sci Reports 2014 등).

3) 공생미생물 조성 연구에서 기능 연구로의 도약 필요

- 미생물 군집 분석만으로는 미생물이 질환에 미치는 병리적 역할을 규명하기 곤란.
- 최근 발표된 논문에서 미생물 군집의 구성 변화만으로는 미생물의 생물학적인 기능을 예측하기 어렵고, 아주 미미한 구성상의 변화가 일어나는 단계에서 이미 원인이 되는 기능의 변화가 관찰되어, 군집 분석만으로는 병리적 역할을 규명하기 어려움을 시사했음 (Genome Medicine, 2013).
- 미생물 군집 내의 생물학적인 기능에 대한 직접적인 정보를 얻기 위해서는 미생물의 전체 유전자에 대한 염기서열분석을 통해 미생물의 유전적 잠재성을 조사해야 함.
- 이 외에도 metatranscriptomic cDNA sequencing, metaproteomics, metabolomics 등의 기술을 이용하여 가능한 모든 정보를 수집하고, 이러한 생물학적인 정보를 임상적, 역학적 정보와 통합하여 미생물과 질환과의 연결고리를 해석하는데 이용해야 함.

4) 공생미생물과 면역과의 관련성

- 인체의 면역 시스템은 고전적 개념으로는 외부의 병원성 미생물로부터 인체를 보호하는 것이지만, 인체에 많은 미생물이 공생하며 복잡한 시스템을 이루고 있기 때문에 면역 체계와 미생물이 상호작용을 통해 면역 시스템을 이루고 있다는 개념으로 확장되고 있음.
- 항체나 면역 세포가 미생물의 기작과 개체 수를 조절하기도 하며, 반대로 마이크로바이옴이 비장이나

홍선과 같은 림프계의 발달에 중요한 역할을 하고 면역 세포의 기능에 영향을 끼치기 때문에 장내에 마이크로바이옴이 제대로 형성되지 않거나 균형이 깨지면 면역학적 반응이 이루어지지 않거나 정착되지 않아 여러 가지 질병이 발생할 가능성이 높다는 것이 밝혀지고 있음.

5) 암의 치료, 진단, 예후, 모니터링을 위한 공생미생물 생체지표 연구의 기초 자료 필요

- 공생미생물이 질병과의 연관성이 밝혀지기 시작하면서, 이를 치료, 진단, 예후, 혹은 모니터링하는 도구로 이용하고자 하는 연구가 활발함.
- 이와 같은 실용 연구가 진행되기 위해서는 공생미생물 생체지표 후보가 탐색되어야 하며, 이를 위해서는 공생미생물과 암과의 인과 관계, 생물학적 역할, 기전 등이 과학적으로 규명된 연구가 필요함.
- 면역시스템과 관련하여 구강암의 예후를 예측할 수 있는 마커가 아직 많지 않고, 연구결과가 일관되지 않음.

2. Study Objectives 연구목적

- 1차 연구목적: 암(위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암) 발생에서 공생미생물의 종류 및 relative abundance 양상을 파악하고 호스트요인, 환경적 위험인자(diet, 생활습관)와의 관련성을 탐색

- 2차 연구목적: 암화 과정에서 환경적 인자와 공생미생물과의 상호작용을 탐색 관찰

3. Study Design 연구디자인

- 관찰연구 : 설문조사 연구, 환자 대조군 연구(case-control study)
- 연구의 관점 : 전향적 연구
- 참여기관 : 단일기관 연구(국립암센터)

4. Study Population 연구대상자

- 연구대상질환: 위암, 대장암, 유전성암(린치증후군, FAP), 비뇨기암, 췌장암, 두경부암(인두암, 후두암, 비부비동암, 편도암, 갑상선암), 구강암, 자궁경부암(ASCUS, CIN1, CIN2, CIN3, CIS, Cervical cancer로 진단), 자궁내막암, 폐암, 식도암

○ 선정기준:

- 위암 환자: 만 18세 이상 75세 미만의 위암 환자로 처음 진단되고 연구에 동의한 대상자
- 대장암 및 대장암 전구 병변 환자: 만 18세 이상 75세 미만의 대장암 및 대장암 전구 병변으로 진단받고 연구에 동의한 대상자
- 유전성암 환자: 만 18세 이상 75세 미만의 유전성암 환자(e.g. 림치증후군(Lynch syndrome),

FAP(familial adenomaous polyposis), etc)로 진단받고 연구에 동의한 대상자

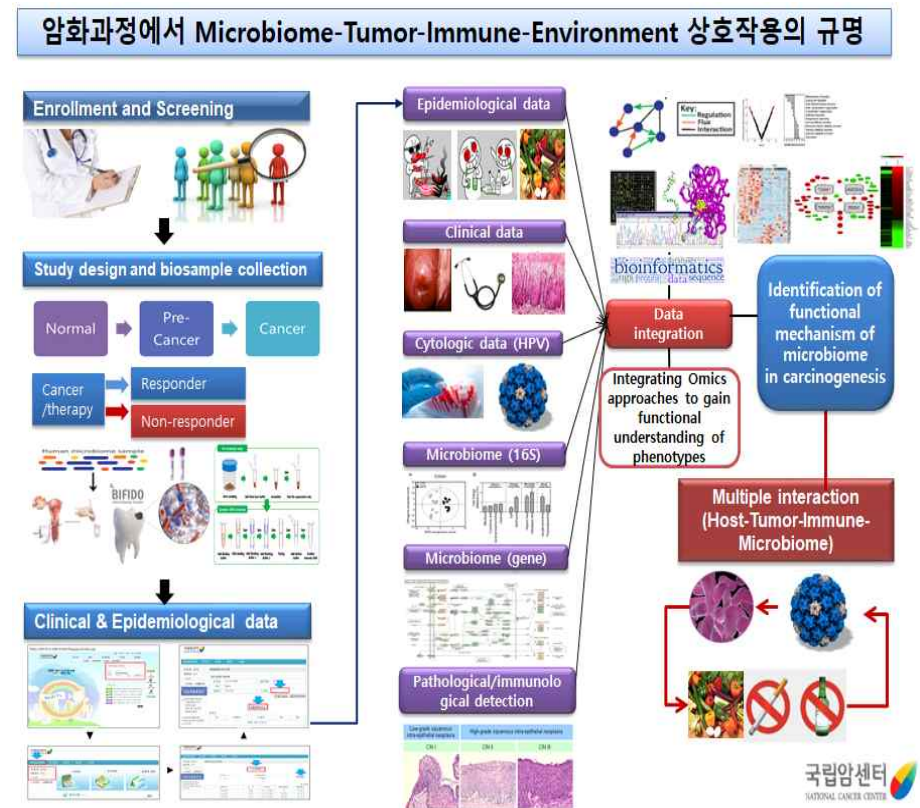
- 췌장암 환자: 만 18세 이상 75세 미만의 췌장암 환자로 처음 진단되고 연구에 동의한 대상자
- 비뇨기암 환자: 만 18세 이상 75세 미만의 비뇨기암 환자로 처음 진단되고 연구에 동의한 대상자
- 두경부암 환자: 만 18세 이상 75세 미만의 두경부 편평상피세포암종(인두암, 후두암, 비부비동암, 편도암, 갑상선암) 환자로 처음 진단되고 연구에 동의한 대상자
- 구강암 환자: 만 18세 이상 구강종양클리닉에 내원한 편평상피세포암종 환자 중에서 연구에 동의한 대상자.
- 자궁경부암 환자: 만 18세 이상 자궁난소암센터에 내원하는 환자들을 대상으로 하여 조직병리학적으로 ASCUS, CIN1, CIN2, CIN3, CIS, Cervical cancer로 진단되고 연구에 동의한 대상자
- 자궁내막암 환자: 만 18세 이상 자궁난소암센터에 내원하는 환자들을 대상으로 하여 조직병리학적으로 자궁내막암으로 진단되고 연구에 동의한 대상자
- 폐암, 식도암 환자: 만 19세이상 폐암센터에 내원하는 폐암, 식도암 환자들을 대상으로 면역항암제를 치료 목적으로 사용할 환자 중 연구에 동의한 대상자
- 대조군: 외래 및 검진센터를 방문한 만 18세 이상 암이 없는 건강한 대상자와 유전성암 환자의 가족 중에 암 발생하지 않은 대상자이면서 연구에 동의한 대상자로서 연령(± 2 세), 성별, 등재 시기 등을 매칭하여 모집함.

○ 제외기준:

- 만 18세 미만의 미성년자 제외
- 위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암 환자의 경우 만 75세 이상의 고령자 제외
- 암 과거력이 있는 대상자

○ 탈락기준: 동의 철회

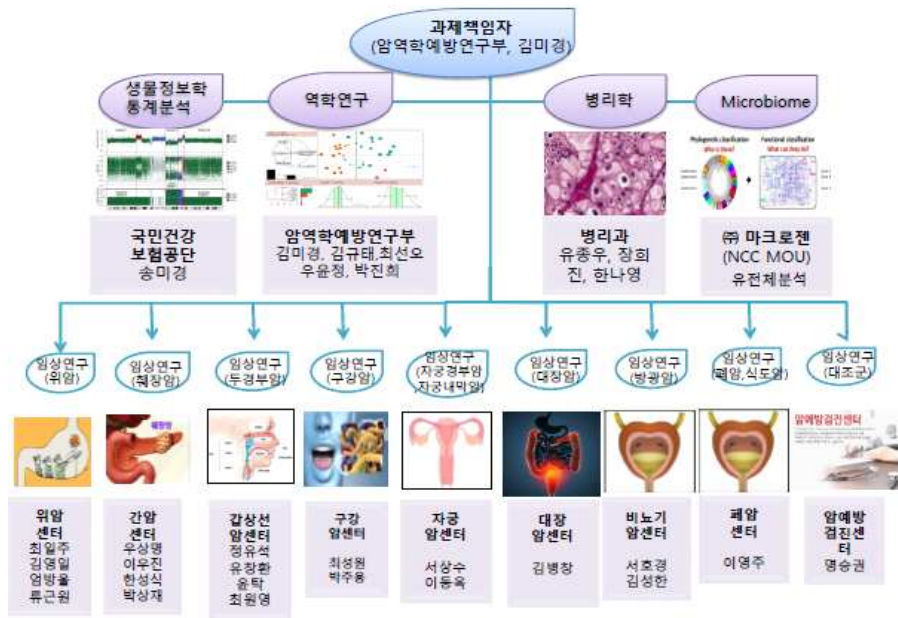
5. Study diagram 연구흐름도 (schema 형식으로)



6. Patient Recruitment & Registration 연구대상자 모집

○ Cancer Microbiome Study 그룹 구성

- 위암, 췌장암, 비뇨기암, 두경부암, 자궁암(제2세부), 구강암(제3세부), 대장암, 폐암, 식도암 등의 주요 암을 중심으로 Cancer Microbiome Study 그룹을 구성하고 참여연구진들의 정기적인 미팅을 통해 정보를 공유하고 연구를 진행함
- 환자-대조군의 연구디자인 설계, 임상정보/역학정보 등의 자료 수집, 정도관리 및 IRB 통과, 연구 프로토콜 구성



○ 연구 대상자 수

- 환자군 : 국립암센터에 내원한 위암, 대장암, 유전성암(린치증후군, FAP), 비뇨기암, 폐암, 두경부암(인두암, 후두암, 비부비동암, 편도암, 갑상선암), 구강암, 자궁경부암(ASCUS, CIN1, CIN2, CIN3, CIS, Cervical cancer로 진단), 자궁내막암, 폐암, 식도암 환자로 각 외래에서 연구에 대한 설명을 듣고 참여에 동의한 대상자. 2019년 IRB승인일 이후부터 2025년(모집기간 6년)동안 위암, 대장암, 유전성암(린치증후군, FAP), 비뇨기암, 폐암, 두경부암(인두암, 후두암, 비부비동암, 편도암, 갑상선암), 구강암, 자궁경부암(ASCUS, CIN1, CIN2, CIN3, CIS, Cervical cancer로 진단), 자궁내막암, 폐암, 식도암 환자로 진단되고 연구 참여에 동의한 대상자 총 1935명. 1년 동안 모집 될 위암 환자 100명, 대장암 환자 50명, 유전성암 환자 15명(린치증후군 10명+FAP 3~5명), 비뇨기암 환자 100명, 폐암 환자 100명, 두경부암 환자(인두암, 후두암, 비부비동암, 편도암, 갑상선암) 50명, 구강암 환자 100명, 자궁경부암 환자 50명, 자궁내막암 환자 50명, 폐암 및 식도암 30명 총 645명. 전체 모집기간 6년 동안 모집 될 위암 환자 300명, 대장암 환자 150명, 유전성암 환자 45명, 비뇨기암 환자 300명, 폐암 환자 300명, 두경부암 환자 150명, 구강암 환자 300명, 자궁경부암 환자 150명, 자궁내막암 환자 150명, 폐암 및 식도암 90명으로 총 1935명.
- 대조군 : 국립암센터 검진센터 및 외래를 방문한 암이 없는 건강인으로 연구에 대한 설명을 듣고 참여에 동의한 대상자. 2019년 IRB승인일 이후부터 2025년(모집기간 6년)동안 국립암센터 검진센터 및 외래를 방문한 암이 없는 건강인으로 연구 참여에 동의한 대상자와 유전성암환자의 가족 중

에 암 발생하지 않은 연구에 동의한 대상자 총 1545명. 환자군과의 비교성을 높이기 위하여 환자군의 특성(성별, 연령±2세, 모집시기 등)을 고려하여 선정. 모집기간 1년 동안 모집 될 대조군은 총 515명. 전체 모집기간 6년 동안 모집 될 대조군은 총 1545명.

○ 연구대상자 표본 크기 산정의 이론적 근거: 본 연구는 가설 검정을 위한 연구가 아닌 탐색적 연구로 암화과정에서 Microbiome-Host factor-Environment 상호작용의 규명을 위한 환자대조군 연구임. 즉, 인체 공생 미생물과 암과의 연관성을 찾으려는 연구이며, 미생물의 유전적 잠재성을 조사하여 미생물 군집 내의 생물학적 기능의 정보를 얻으려고 함. 그러기 위해서 먼저 공생미생물 생체지표 후보가 탐색되어야 하며, 이를 위해서 공생미생물과 암과의 인과 관계, 생물학적 역할, 기전 등 연구를 필요로 함. 미생물이 암화 과정에 참여한다는 것은 알려진 사실이며, 차이가 있는 미생물은 무엇이며, 어떤 미생물이 관여하는 것인지에 대한 연구는 미생물과 암의 연관성을 조사하기 위한 초기 연구로 볼 수 있음. 3,480명의 연구대상자는 10개의 암에서 합쳐진 연구대상자이며 각각의 암에서 미생물과의 관련성은 다르기 때문에, 10개의 암에서 각각의 기초 연구들이 수행되어야 함. 최근에 보고된 연구를 참조하여 연구대상자 수를 고려함(표 참조). 참조 문헌과, 10개의 암환자 모집을 수행할 각각의 센터 공동연구자들과 회의 후에 연구대상자 수를 결정함.

표. 각각의 암에 따른 연구대상자 수

암 종류	대상자 수	참조 문헌
위암	60 normal 61 peritumoral 59 tumoral tissues	Z Ling et al., 2019
	116 gastric patients 88 healthy controls	YF Qi et al., 2018
	115 GC patients 35 healthy volunteers	J Xu et al., 2019
	57 newly diagnosed gastric adenocarcinomas 80 healthy controls	J Wu et al., 2018
	111 patients with subtotal gastrectomy 344 control subjects	XH Lin et al., 2018
대장암	404 enrolled in the average risk 514 in the moderate risk 204 in high risk group with in advanced colorectal neoplasms	HJ Yang et al., 2017
	57 healthy controls 44 advanced adenoma	Q Feng et al., 2014

	46 carcinoma	
	99 colorectal cancer 32 colorectal polyps 103 controls	B Flemer et al., 2018
	361 incident adenocarcinoma of pancreas 371 matched controls	X Fan et al., 2018
	14 patients 14 healthy controls	QX Mei et al., 2018
췌장암	85 pancreatic carcinoma 57 matched healthy controls	Z Ren et al., 2017
	40 pancreatic ductal adenocarcinoma 39 intraductal papillary mucinous neoplasms 58 controls	SH Olson et al., 2017
	8 pancreatic cancer 78 other diseases 22 healthy controls	PJ Torres et al., 2015
	18 double-blind randomised into the symbiotic 18 control group	PC Lages et al., 2018
	129 Head and neck squamous cell cancer 254 controls	RB Hayes et al., 2018
	197 oral squamous cell carcinoma patients 51 healthy individuals	CY Yang et al., 2018
구강암	138 oral squamous cell carcinoma 151 controls	JR Hsiao et al., 2018
	127 normal 124 epithelial precursor lesion 125 cancer	WH Lee et al., 2017
	40 oral squamous cell carcinoma 40 normal	H Zhao et al., 2017
	70 control group 95 LSIL 85 HSIL	W Kwasniewski et al., 2018
자궁경부암	126 CIN1-	C Zhang et al., 2018

	40 CIN2+	
	65 CIN 72 control	SS Seo et al., 2016
	52 LSIL 92 HSIL 5 invasive cervical cancer 20 healthy control	A Nutra et al., 2015
	70 CIN 50 control	HY Oh et al., 2015
자궁내막암	90 HPV positive 43 HPV negative	W Ritu et al., 2019
	17 endometrial cancer 4 endometrial cancer precursor 10 benign uterine conditions	MR Walther-António et al., 2016
비뇨기암	6 control 3 benign (negative biopsy) 7 localized prostate cancer 7 biochemically recurrent prostate cancer	KS Sfanos et al., 2018
	31 male patients with bladder cancer 18 non-neoplastic controls	P Wu et al., 2018
	65 men with benign biopsies 65 men diagnosed with prostate cancer 5 men with an initial benign biopsy	E Shrestha et al., 2018

○ 연구 대상자 모집 방법 및 절차

- 위암센터, 대장암센터, 비뇨기암센터, 두경부종양클리닉, 간담도췌장암센터, 갑상선암센터, 구강종양클리닉, 자궁난소암센터, 폐암센터
 - 담당의가 연구대상자로 적합한 대상자를 선정. 전적으로 담당의의 판단에 의함.
 - 담당의가 연구에 대한 설명과 필요한 절차(검체 채취, 설문지 작성)에 대해 간략히 설명하고 구두 동의를 받음.
 - 대상자를 암역학예방연구부 연구담당자(박진희)에게 인계. 연구담당자는 환자에게 연구에 대한 설명과 필요한 절차에 대해 자세히 설명하고 서면 동의를 받음.
 - 연구 동의한 대상자 연구용 검체(타액5ml, 혈액8ml, 소변30ml, 대변4g 또는 rectal swab) 1회 채취, 설문지 작성을 실행함. 단, 자궁암 관련 대상자의 경우 자궁경부세포(cervical swab) 1회(2bottle) 추가 채취하며, 두경부암과 구강암 관련 대상자의 경우 oral swab 두 볼 각1회(2bottle), primary 1회(2bottle) 추가 채취함.
 - 수술 (또는 치료)을 받은 환자의 경우 수술(또는 치료) 후 연구용 검체(타액5ml, 혈액8ml, 소변30ml, 대변4g 또는 rectal swab) 1회 추가 채취함. 단, 자궁암 관련 대상자의 경우 자궁경부세포(cervical swab) 1회(2bottle) 추가 채취하며, 두경부암과 구강암, 폐암 및 식도암 관련 대상자의 경우 oral swab 두 볼 각1회(2bottle) 추가 채취함. 비뇨기암, 두경부암, 자궁암, 위암, 대장암, 췌장암, 구강암, 폐암, 식도암관련 대상자 중 수술하는 대상자의 경우 수술시 수술실에서 연구용 검체(조직 200mg) 1회 채취함.췌장암 관련 대상자는 수술(또는 치료) 후 내원 시 2-3개월 마다(연구담당자 및 내원 일정에 따라 조정할 수 있음) 연구용 검체(타액5ml, 혈액8ml, 대변4g 또는 rectal swab)를 추가 채취하며, 두경부암 관련 대상자는 매 3주 간격으로 치료가 완료되는 시점까지 연구용검체(타액5ml, 혈액8ml, 대변4g 또는 rectal swab, oral swab)를 추가 채취함. 폐암,식도암 관련 대상자에 한해서 항암 후 6주, 수술과 방사선 끝나고 바로(3개월마다/2년)치료 완료되는 시점까지 연구용검체(타액5ml, 혈액8ml, 대변4g 또는 rectal swab(대장미생물,2소병), oral swab(구강미생물, 2소병)를 추가 채취함.
 - 수집되는 인체유래물이 모두 수집되지 않아도 연구진행에 영향을 미치지 않음. 수집 되어진 인체유래물에서 연구 진행 함.

• 검진센터

- EMR을 통해 공단검진 대상자 열람이 가능한 연구담당자가 공단검진 예약자 중에서 개인정보 수집 및 이용 동의서(2.개인정보의 수집 및 이용목적, [성명, 연락처, 주소], · 외부 수탁검사 및 임상시험심사를 위한 기초자료로 개인정보 이용)를 기작성한 연구대상자로 적합한 대상자를 검색하여 선정.
- 선정된 대상자에게 연구담당자가 문자(연구 대상자 모집 문건의 사용) 또는 사진전화를 하여 연구에 대한 설명과 필요한 절차(검체 채취, 설문지 작성)에 대해 간략히 설명하고 구두 동의를 받음.(연구담당자는 EMR을 통해 공단검진을 시행하기로 예약된 대상자의 리스트를 방문일 2-3주일 전에 미리 확인 가능하며 대상자의 성명, 휴대폰 번호를 확인 할 수 있음. 이때, 대상자의 개인식별정보인 성명, 휴대폰 번호는 문서화하지 않으며 개인정보가 철저히 보호될 수 있도록 함.)

- 연구 참여에 대해서 구두로 동의한 대상자에게 연구동의서, 설문지를 우편으로 발송하고, 연구 참여자에게 연구비(총괄과제1910180-1, 세부과제 1910181-1, 1910182-1, 1910183-1)로 제공되는 검사(동맥경화도, 골밀도, 후두경 검사)중 연구대상자가 원하는 것 1가지를 선택하게 함. 연구대상자가 선택한 검사를 공단검진 시행 당일 암예방검진센터(국립암센터 장비 사용)에서 1회 시행할 수 있도록 연구담당자가 사전 예약함.
- 연구 참여 동의한 대상자가 공단검진 시행 차 검진센터에 내원하면 연구담당자는 기작성 된 연구동의서와 설문지를 수거하고, 연구 동의한 대상자의 연구용 검체(타액5ml, 혈액8ml, 대변4g)를 1회 채취하며, 사전 예약 된 검사(동맥경화도, 골밀도, 후두경 검사 중 1)를 1회 시행함.
- 연구동의서에 연구책임자의 설명과 서명을 위임받은 연구원이 서명을 하고, 동의서 사본을 즉시 발급하며, 추후 공단검진 결과지 우편 발송시 설문 조사에 근거한 영양상태 평가 결과지 1부, 연구참여시 제공된 검사의 결과지 1부를 발송함.
- 수집되는 인체유래물이 모두 수집되지 않아도 연구진행에 영향을 미치지 않음. 수집 되어진 인체유래물에서 연구 진행 함.

* 타액은 병원에서 필요한 진료(수술, 검사 등) 목적 외의 별도로 채취함. 혈액은 일반적으로 진료(수술, 검사 등) 목적으로 채혈 시 연구용 혈액을 추가 채취하지만, 진료 목적으로 채혈하지 않을 시 연구용 혈액을 별도 채취함. 대변은 일반적으로 진료 목적 외 연구 목적으로 별도 채취하지만, 진료 목적으로 대변 샘플을 제출하는 일부대상자는 진료 목적의 대변 샘플 제출 시 연구용 대변 샘플을 추가로 제출함. 대변 자가 채득이 어려운 대상자의 경우 연구용 rectal swab을 대변을 대신하여 별도 채취함. 자궁암 관련 대상자의 경우 자궁경부세포는 일반적으로 진료 목적으로 채취 시 추가로 연구용 자궁경부세포를 채취하지만, 만약 진료 목적으로 채취 하지 않을 시 연구용 자궁경부세포를 별도 채취함. 두경부암과 구강암 관련 대상자의 경우 oral swab는 일반적으로 진료 목적으로 채취 시 추가로 연구용 oral swab를 채취하지만, 만약 진료 목적으로 채취 하지 않을 시 연구용 oral swab를 별도 채취함. 비뇨기암, 두경부암, 자궁암 관련 대상자 중 수술하는 대상자의 경우에 한하여 조직은 수술실에서 채취함.

○ 연구 대상자 모집 문건의 사용

• 문자

연구 대상자 모집 공고

국립암센터 암역학예방연구부에서

암화과정에서 미생물-인체-환경(Microbiome-Host factor-Environment) 상호작용의 규명을 위한 환자대조군 연구: 위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암 을 중심으로 연구에 참여할 대상자를 모집합니다.

1. 연구 목적

암(위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암)의 공생 미생물의 종류 및 상대적 분포 양상을 파악하고 혈액내 염증지표 분석

2. 연구 대상자

만 18세 이상의 암이 없는 건강인으로 공단검진을 시행하는 사람.

3. 대상자수, 참여기간, 방문 횟수, 연구 방법

본 연구에서는 대략 3000명의 대상자가 모집될 것입니다. 참여기간은 2025-12-31까지입니다. 방문 횟수는 1회이고, 생활습관 설문조사와 인체유래물(타액, 혈액, 대변) 채취가 1회 시행됩니다.

4. 예측 가능한 부작용

본 임상연구에 이용되는 혈액 샘플 채취는 여러 가지 임상검사 시행 시에 추가로 뽑는 과정이므로 채혈 부위에 멍이 드는 것과 같은 경미한 부작용이 나타날 수 있습니다. 이 외 예상하지 못한 부작용도 발생할 수 있습니다.

5. 문의 및 신청

담당자: 국립암센터 암역학예방연구부 박진희(031-920-2211)

국립암센터

경기도 고양시 일산동구 일산로323 연구동 2층

책임 연구원: 국립암센터 암역학예방연구부 김미경(031-920-2202)

- * 연구 대상자 모집 공고는 편집이 통제된 형태로 문자 전송함. 대상자가 모집공고를 삭제, 차단 등을 할 수 있도록 무료수신거부 서비스를 시행함.

7. Study Assessment & Efficacy 연구평가 및 효과평가

- 구강(또는 장 자궁) 공생미생물의 16S rRNA pyrosequencing을 이용한 microbiome 분석: 16S ribosomal RNA 분석: 종에 따른 미생물들을 구분하기 위하여 16S rRNA의 hypervariable regions 에 타겟으로 하는 primer를 제작하여 NGS를 이용하여 sequencing함. Quality Control과 Chimera check이 끝난 sequence를 사용하며 마이크로바이옴에 어떤 미생물이 존재 하는지 알아보기 위한 Taxonomy분석은 RDP classifier를 이용하여 진행함(Wang et al. (2007) Appl Environ Microbiol.). 그리고 QIIME pipeline을 이용하여 Operational taxonomic unit(OTU)이라는 미생물 종 분석단위를 만들고 계통구조 분석 및 다양성 분석을 하여 인체내에 존재하는 미생물 커뮤니티 분석을 진행함. 16S rRNA 유전자를 기반으로 미생물의 기능(function)을 예측하는 분석 소프트웨어인 PICRUSt 를 이용하여 KEGG pathway 등 예측함.
- 미생물 커뮤니티 분석은, 알파 혹은 베타 다양성 지수를 이용하여 환자와 대조군 사이에 차이가 있는지 wilcoxon rank-sum test, kruskal-wallis test, PCoA 분석을 통해 알아냄.
- 각각의 미생물들 중, 어떤 미생물이 암화과정에 영향을 미치는지 wilcoxon rank-sum test, kruskal-wallis test를 통해 선택하고, 그 선택된 미생물이 암화에 미치는 위험도를 Odds Ratio로 측정함.
- PICRUSt를 이용하여 미생물에서 예측한 function인 KEGG pathway, KEGG ortholog 중 어떤 것들이 암화과정에 영향을 미치는지 wilcoxon rank-sum test, kruskal-wallis test를 통해 확인함.

- microbiome-host-environment 상호작용 분석을 spearman correlation analysis를 통해 연관성을 확인하고 network analysis를 통해 표현함.
- 생물정보학 기술을 이용하여 이미 알려진 군집 분석, 새로운 군집 분석, 각 종 내에서의 미생물 구조, 높게 발현되는 단백질 도메인 분석, 특정 유전자에 상응하는 단백질 도메인, 단백질 대사 경로 등을 wilcoxon rank-sum test, kruskal-wallis test로 알아냄.
- 통계적 해석에서 유의하다고 판단되는 $p < 0.05$ 를 기준으로 분석이 수행될 것이며, 모든 결과는 생물학적인 해석을 하여 암화과정을 좀더 분명하게 할 것임.

8. Study method 연구 방법

1) 역학적(생활습관) 특성 연구

인구학적 요인, 생식력, 흡연 및 음주력, 사회경제적 요인, 질병 과거력, 가족력, 영양요인(24시간 식사 기록지 및 식품섭취빈도조사지를 통한 영양 및 식품요인) 등 위험요인들을 암종별(위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암)로 분포를 확인

2) 임상적 양상 및 임상경과 조사

- 암환자(위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암)의 임상자료를 취합함. 임상양상 및 임상경과 조사(연도별 환자 수, 환자 분포 %, 생존율, 병기별 생존율, 임파선전이 %), 병기, 조직분화도 등급의 차이, 혈관림프관침윤 차이, 폐경 여부, 치료 방법 등 조사

3) 구강(또는 장 자궁) 공생미생물의 16S rRNA pyrosequencing을 이용한 microbiome 분석

- 일반적인 bead-beating 프로토콜을 이용하여 시료들(saliva, stool, tissue)로부터 DNA를 추출하고, 각 DNA 시료 안에 존재하는 박테리아 16S rRNA 유전자의 V2 regions 이 PCR (3 reactions/sample)을 이용하여 증폭함. 각 시료(saliva, stool, tissue)로부터 생성된 동량의 정제된 PCR 산물들이 multiplex FLX amplicon pyrosequencing (Turnbaugh 등. 2009. Nature)을 하기 위해 수집함. Pyrosequencing reads는 200nt 서열로 조절되었고, noise와 chimeras는 제거되어 (Huber 등. 2004. Bioinformatics), data sets of 36,836 (한국)와 287,230 (미국) reads가 생성. 데이터셋은 QIIME이 내장된 응용프로그램을 이용하여 비교 (Caporaso 등. 2010. Nat. Methods)

4) Metagenomics shotgun

- Metagenome shotgun은 DNA 전체를 염기서열단편으로 무작위로 확보한 후 이를 조립하는 유전체분석 방법. 이 기술을 활용하면 군집 내에 존재하는 전체 미생물들의 유전체 정보를 확인 가능. 특정 마커 유전자(16S rRNA/ ITS)에 대한 NGS 시퀀싱 기술이 주로 생물체의 군집 다양성을 분석하기 위한 용도에 쓰인다면, shotgun sequencing 기법은 시료 내에 존재하는 수많은 유전자의 다양성과 더불어 전체 유전자들의 기능과 상호작용을 파악할 수 있는 방법.
- Metagenomic 분석 전략: Marker gene, binning, assembly 분석들이 미생물 군집의 taxonomic 또는

phylogenetic 다양성에 대한 결과를 제공하고 새로운 미생물 혹은 유전자들을 발견할 수 있음. Metagenomes은 gene prediction과 functional annotation이 가능하고, 미생물 군집과 연관된 생물학적인 기능들을 특성화하고 새로운 유전자들을 발견하는데 이용 가능함. 미생물군 간의 유사성을 정량화하고, 군집 다양성 범위가 다른 역학 요인들에 의해 변화되는지를 결정.

- Metagenome functional annotation 작업: Metagenome은 각각의 reads를 gene prediction과 functional annotation에 적용하여 annotate를 할 수 있음. Gene prediction에서 여러 알고리즘이 metagenome read에 단백질을 암호화 하는 subsequences를 조사하기 위해 사용됨. 예측된 단백질 기능 예측되며, 데이터베이스를 이용하여 단백질 패밀리/웹타이드 기능 알 수 있음.

5) 식사업증지표 (Dietary Inflammation Index, DII®): 식품섭취빈도조사지를 이용하여 측정한 45개 식품군에 대하여 Shivappa N & Hebert J 등이 개발한 방법을 이용하여 계산

6) High-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) : turbidimetric assay method (ADVIA 1650 and ADVIA 1800; Siemens Healthineers)를 이용하여 측정.

7) 면역형광법에 의한 다중염색 (Immunofluorescence-based multiplex staining) : 파라핀 블록을 4mm 두께로 잘라서 PerkinElmer Opal 7 solid tumour immunology kit를 이용하여 염색하고, 슬라이드를 PerkinElmer Polaris를 이용하여 scan 한 후, 확보한 이미지를 inForm software (PerkinElmer, Hopkinton, MA)로 분석함(#1). CD20, CD4, CD8, CD68, PD-L1, forkhead box P3 (foxP3) 항체를 이용하여 6가지의 tumour-infiltrating immune cells (CD20+ B cells, CD4+ T cells, CD8+ T cells, CD68+ macrophages, and foxP3+ regulatory T cells)의 density(cells/mm2)을 측정. Anti-cytokeratin (CK) 항체와 4',6-Diamidino-2-Phenylindole (DAPI)는 tumour cell identifications을 위해 사용함. 환자의 FFPE 슬라이드를 IHC를 수행하여 종양내로 침투한 면역세포를 분석.

8) 대사체분석: UPLC/Q-TOF mass를 이용한 global profiling 분석: Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC, Waters, MA, USA)와 결합한 triple TOF™ 5600 MS/MS system (AB Sciex, Conconrd, Canada)를 사용하여 혈액 내 대사체 (polar/lipid 대사체)를 측정.UHPLC/triple quadrupole mass를 이용한 targeted profiling 분석: Ultra-high Performance Liquid Chromatography 1290 Infinity (UHPLC, Agilent, CA, USA)와 결합한 6495 triple quadrupole MS (UHPLC, Agilent, CA, USA)를 사용하여 혈액 내 global profiling으로 선정된 target 대사체를 정량 분석한다. Target 대사체의 특성에 맞게 LC 컬럼과 조건, MS 조건을 확립한 후, MRM 모드를 사용하여 정량 분석한다. Target 대사체의 표준 시약을 구비하여 calibration curve를 그린 후 샘플을 분석하여 샘플 내 target 대사체의 농도를 얻어냄

○ 연구일정표

관찰항목	스크리닝					
	1년차 (2019)	2년차 (2020)	3년차 (2021)	4년차 (2022)	5년차 (2023)	6년차 (2024)
연구자 미팅(Cancer microbiome study group, 월1회)	0	0	0	0	0	0
연구대상자 스크리닝/등록	0	0	0	0	0	0
설문지/연구샘플채취	0	0	0	0	0	0
진단, 병리학적 정보 수집	0	0	0	0	0	0
실험분석	0	0	0	0	0	0
1년차 예비분석	0					
2년차 예비분석		0				
3년차 예비분석			0			
4년차 예비분석				0		
5년차 예비분석					0	
6년차 예비분석						0
생물정보학적 분석과 통계 분석	0	0	0	0	0	0
보고서작성			0			0
논문작성 (중간분석결과로도 논문이 작성가능하면 진행)	0	0	0	0	0	0

○ 연구기간 : 총 연구기간 2019년 IRB승인일 이후부터 2025년 12월 30일.

○ 인체유래물연구인 경우

1) 수집 및 보관되는 인체유래물 종류:

<타액>

■ 국립암센터에 내원한 사람들 중 연구 참여에 동의한 대상자의 타액을 확보함. 해당암 관련 대상자는 수술(또는 치료) 후 내원 시 2-3개월 마다(연구담당자 및 내원 일정에 따라 조정할 수 있음), 두경부암 관련 대상자는 매 3주 간격으로 치료가 완료되는 시점까지 추가 채취함. 폐암 및 식도암 관련 대상자는 항암 후 6주, 수술과 방사선 끝나고 바로(3개월마다/2년)치료 완료되는 시점까지 추가 채취함. 채득 전 1시간 이상 음식, 음료 섭취 및 구강양치를 하지 않도록 주의시키며 비자극 타액을 약 5ml를 채취함. 타액은 소독 처리 된 15ml conical tube에 받음.

■ 연구대상자는 적어도 1분 동안 타액을 입안에 모으도록 함. 과정을 반복하여 약 5ml를 채취함.

■ 채득한 타액에 PBS를 넣고 eppendorf tube에 분주하여 저온에 보관하며 연구실의 냉동고로 가급적 빨리 이송하여 -70도 이하에서 보관하여 추후 실험에 사용함.

<혈액>

- 국립암센터에 내원한 사람들 중에서 연구 참여에 동의한 대상자의 혈액을 확보함. 췌장암 관련 대상자는 수술(또는 치료) 후 내원 시 2-3개월 마다(연구담당자 및 내원 일정에 따라 조정할 수 있음), 두경부암 관련 대상자는 매 3주 간격으로 치료가 완료되는 시점까지 추가 채취함. 연구에 사용할 혈액 8ml는 EDTA tube에 받음.
- 4℃에서 3000rpm으로 20분간 원심분리하고 whole blood, plasma, buffy coat, red blood cells로 나누어 연구실의 냉동고에 -70도 이하에서 보관하여 추후 실험에 사용함.
- 시료를 가급적 채득 직후 냉동 보관하는 것을 원칙으로 함.

<대변>

- 국립암센터에 내원한 사람들 중에서 연구 참여에 동의한 대상자의 대변 약 4g을 멸균통에 확보함. 자가에서 시행 후 제출 하도록 함. 췌장암 관련 대상자는 수술(또는 치료) 후 내원 시 2-3개월 마다(연구담당자 및 내원 일정에 따라 조정할 수 있음), 두경부암 관련 대상자는 매 3주 간격으로 치료가 완료되는 시점까지 추가 채취함.
- 채득한 대변은 적정용량으로 나누어 연구실 냉동고에 -70도 이하에서 보관하여 추후 실험에 사용함.

<소변>

- 국립암센터에 내원한 사람들 중에서 연구 참여에 동의한 대상자의 소변 30ml를 멸균통에 확보함. 비뇨기 관련 대상자는 수술(또는 치료) 후 내원 시 2-3개월 마다(연구담당자 및 내원 일정에 따라 조정할 수 있음),
- 채득한 소변은 적정용량으로 나누어 연구실 냉동고에 -70도 이하에서 보관하여 추후 실험에 사용함.

<rectal swab>

- 국립암센터에 내원하여 연구 참여에 동의한 대상자 중 대변 채득에 어려움이 있는 대상자의 rectal swab을 확보함. 췌장암 관련 대상자는 수술(또는 치료) 후 내원 시 2-3개월 마다(연구담당자 및 내원 일정에 따라 조정할 수 있음), 두경부암 관련 대상자는 매 3주 간격으로 치료가 완료되는 시점까지 추가 채취함.
- 채득한 rectal swab은 적정용량으로 나누어 연구실 냉동고에 -70도 이하에서 보관하여 추후 실험에 사용함.

<자궁경부세포>

- 국립암센터 자궁암 관련 센터에 내원하는 환자들을 대상으로 하여 조직병리학적으로 정상군 (ASCUS 포함), CIN1, CIN2, CIN3, CIS, Cervical cancer 진단되고 연구 참여에 동의한 대상자의 자궁경부세포를 digene HC2 DNA Collection Device를 이용하여 1회(2vial) 채취함.
- 채득한 자궁경부세포는 적정용량으로 eppendorf tube에 분주하여 연구실 냉동고에 -70도 이하에서 보관하여 추후 실험에 사용함.

<oral swab>

- 국립암센터 구강암과 두경부암 관련 센터에 내원하는 환자들을 대상으로 하여 조직병리학적으로 편평상피세포암종으로 진단되고 연구 참여에 동의한 대상자의 oral swab를 Copan eSWAB 480CE를 이용하여 각 두 볼 1회(2bottle) 채취함. 두경부암 관련 대상자는 매 3주 간격으로 치료가 완료되는 시점까지 추가 채취함. 폐암 및 식도암 관련 대상자는 항암 후 6주, 수술과 방사선 끝나고 바로(3개월마다/2년)치료 완료되는 시점까지 추가 채취함.
- 채득한 oral swab는 적정용량으로 eppendorf tube에 분주하여 연구실 냉동고에 -70도 이하에서 보관하여 추후 실험에 사용함.

<조직>

- 국립암센터 비뇨기암, 두경부암, 자궁내막암, 위암, 대장암, 췌장암, 구강암, 폐암, 식도암 관련 센터에 내원하는 환자들을 대상으로 하여 조직병리학적으로 방광암, 두경부암 편평상피세포암종(인두암, 후두암, 비부비동암, 편도암, 갑상선암), 자궁내막암, 위암, 대장암 췌장암, 구강암, 폐암, 식도암 으로 진단되고 연구 참여에 동의한 대상자의 조직 약200mg을 수술 시 채취함.
- 의사가 수술시 수술실에서 pH 7.4 PBS 10ml가 담긴 conical tube에 조직을 받아 연구원에게 전달함.
- 담아온 PBS로 조직에 묻어있는 혈액을 충분히 세척한 후 cryotube에 적정량 분주하여 연구실 냉동고에 -70도 이하에서 보관하여 추후 microbiome 분석 실험에 사용함.

<시료 관리>

- 타액, 혈액, 대변, 소변, rectal swab, 자궁경부세포, oral swab, 조직의 각 시료에는 대상자의 ID 및 시료번호를 부여하되 동일 대상자에서 타액, 혈액, 대변, rectal swab, 자궁경부세포, oral swab, 조직의 시료번호는 통일함.
- 시료는 별도의 엑셀 파일로 채득날짜, 채득량, 채득시간, 운송시간을 기록하여 관리함.

2) 인간유전정보 사용여부: 사용하지 않음

9. Statistical Methods 통계적 방법

- 각 암종(위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암)에 따른 공생미생물의 종류 및 relative abundance 양상을 파악하고 호스트요인, 환경적 위험인자(diet, 생활습관)와의 관련성을 탐색
- 공생미생물간의 overview를 보기위해 Principal component analysis (PCA) 수행
- 공생미생물의 암종간 분포의 분석은 Kruskal-Wallis 및 chi-square 검정을 수행
- 생물정보학적 데이터 분석: 공생미생물의 각 클러스터의 대표적인 서열은 EzTaxon-e (species type stanins의 16S rRNA 유전자의 시퀀스를 포함하는 공개 데이터베이스)를 사용하며, 배양되지 않은

시퀀스의 분류학적 위치가 BLASTN 결과 중 가장 높은 pairwise 유사성을 사용하여 확인. Chimeric 시퀀스는 UCHIME 알고리즘에 의해 검출/제거하고, reference 데이터베이스에서 2개의 parent 시퀀스와 query 시퀀스의 정렬에 따라 chimeric 시퀀스를 검출하고, MOTHUR 프로그램을 사용하여 다양성 지수를 계산. 파이로시퀀싱 reads는 EMBL SRA 데이터베이스 (<http://www.ebi.ac.uk/ena/data/view/PRJEB5760>)를 이용

- Heat-map 분석은 MULTI-EXPERIMENT VIEWER를 사용하여 수행
- CytoScape를 이용하여 생물학적 패스웨이 네트워크(biological pathway network)분석: 상호작용은 nodes (유전자 또는 단백질)와 edges (간접적 네트워크)나 arcs (직접적인 네트워크)로 표현되며, 네트워크의 위상(topology)은 네트워크의 구조와 형성을 이해하는 중요한 역할을 함. 위상적인 특징을 알기 위해서 주로 사용되는 용어는 degree (한 꼭지점에 연결된 수), clustering coefficient (꼭지점 사이에 연결된 수), shortest path length (두 꼭지점 사이의 거리), betweenness (꼭지점들의 모든 쌍 사이에 가장 짧은 거리 부분)등을 사용함.

10. Interim analysis 중간분석

○ 매 1년마다 중간분석을 실시하여 향후 연구계획(대상자 모집과 논문 작성 등)에 반영

11. Safety 안전성

- 본 연구에 사용되는 자료는 2019년 IRB 승인일 이후부터 2025년까지 국립암센터에 내원한 위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암 환자와 검진센터 및 외래에 내원한 암이 없는 건강인을 대상으로 자료 제공에 동의한 대상자 정보 및 검체를 이용하여 이루어짐. 본 연구는 임상적 중재가 이루어지는 연구는 아니나, 혈액채취(채혈실에서 연구용 샘플로 채취)과정에서 부작용(멍이 드는 것과 같은 경미한 부작용)이 발생할 수 있음. 연구 기간 중에 연구대상자의 안전을 지키고자 최선의 노력을 다할 것임. 만약 중대한 유해사례 발생 시 담당 의사가 빠르고 적절한 조치를 취하여 가능한 피해를 최소화할 것임.
- 일반적인 수술적 절제술을 시행한 후 절제된 장기에서 조직을 채취하고, 연구용 검체 추출만을 위한 시술은 하지 않기 때문에 환자에게 추가적으로 직접적으로 발생하는 위험은 전혀 없다.

12. Ethical Considerations 윤리적 고려

- 2019년 IRB승인일 이후부터 2025년까지 국립암센터에 내원한 위암, 대장암, 유전성암(린치증후군, FAP), 비뇨기암, 췌장암, 두경부암(인두암, 후두암, 비부비동암, 편도암, 갑상선암), 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암 환자 및 검진센터 및 외래에 방문한 암이 없는 건강인을 대상으로 자료 제공에 동의한 대상자 정보 및 검체를 이용하여 이루어짐. 본 연구결과는 환자에게 전혀 영향을 주지 않으며, 어떤 임상적 중재도 이루어지지 않으므로 일반적으로 임상연구에서 발생할 수 있는 윤리적인 측면이

크게 문제가 되지 않을 것으로 판단됨.

- 또한 본 연구의 모든 자료는 엄격하게 연구 대상자의 비밀이 유지되어 보호를 받게 되며, 본 연구의 분석을 위해 제공되는 설문과 검사의 결과는 본 연구의 목적 외에는 이용되지 않으며, 그 결과는 연구 목적 외에는 다른 용도로 사용하지 않으며, 절대 비밀이 보장될 수 있도록 조치하고자 함.

- 연구는 어디까지나 연구대상자의 자발적인 의사에 의하여 참여를 결정하며 연구에 참여한 후에 언제든지 참여 취소를 할 수 있으며 이로 인한 불이익은 전혀 없음. 동의철회 또는 중도 탈락 시에 기존에 수집된 개인식별정보와 아직 사용하지 않은 검체는 폐기되며, 이후에는 어떠한 자료도 추가로 수집하지 않음.

- 인체유래물 보관 및 관리방안 : 채취된 검체는 보관 용기에 담겨 연구실로 이동되며, 타액, 대변, 소변, rectal swab, 자궁경부세포, oral swab는 적정 용량으로 분주되어 보관되며, 혈액은 조성분대로 원심 분리된 후 분주되어 보관됨. 조직은 PBS로 세척하여, 적정량 나누어 보관됨. 모두 냉동고(-70도 이하)에 보관할 것이며, 냉동고 위치 및 샘플 보관 위치를 문서로 작성(샘플박스파일이 따로 있음)하여 관리. 수집된 검체는 연구대상자의 이니셜과 배정된 식별 번호만 기재되어 분석, 관리, 보관될 것임. 검체 관리 및 분석자는 라벨링된 정보 이외에 다른 연구 정보에 접근이 불가능하며, 검체 분석결과는 등록된 연구자에게만 열람이 허용될 것임. 언제라도 연구 담당자에게 통보하여 동의를 취소할 수 있으며 동의 철회시 본 연구의 목적으로 얻어진 인체유래물은 폐기될 것임.

- 보존기간 : 연구대상자가 동의한 보존기간까지 보관 후 즉시 폐기함
- 폐기시점 : 연구대상자가 동의한 보존기간까지 보관 후 즉시 폐기함. 연구가 비정상적으로 종료(중단)될 경우 폐기하지 않음. 동의 철회시 「폐기물관리법」 제13조에 따른 기준 및 방법에 따라 폐기함.

- 개인식별정보를 포함한 개인정보 이용 방안

- 1) 수집하는 개인식별정보 종류-환자등록번호, 성명, 전화번호, 주소, 수집하는 개인정보종류- 성별, 나이, 혈액형, 신장, 체중, BMI, 진단명, 수술력, 병력, 치료력, 과거력, 가족력, 재발, 교육수준, 직업, 결혼 여부, 소득수준, 성관계, 출산여부, 유산여부, 월경, 흡연, 음주, 생활습관, 식품섭취
- 2) 개인 (식별) 정보를 수집하는 목적: 임상결과수집 및 식품영양조사 결과지 송부
- 3) 정보 보유기간: 수집한 자료는 연구종료 후 10년간 보관 후 폐기함.
- 4) 정보 폐기방법: 출력문서인 경우 문서파쇄기를 통한 폐기하고 전산파일의 경우 복구 불가능한 상태로 파일 삭제함.
- 5) 정보 2차사용 여부: 본 연구를 위하여 사용하는 목적 이외에 대상자가 2차적 사용을 동의한 경우는 본 연구와 유사한 연구 또는 포괄적 연구 목적으로 사용을 하나 2차적 사용에 동의하지 않으면 다른 목적으로 활용하지 않을 것임. 피험자가 원하는 기간까지 보관 후 즉시 폐기를 원칙으로 하고 검체 관리 및 분석자는 라벨링된 정보 이외에 다른 연구 정보에 접근이 불가능하며, 검체 분석결과는 등록된 연구자에게만 열람이 허용될 것임. 채취된 검체가 2차 사용될 경우, 수집된 개인 (식별) 정보도 이용. 연구

파일에 접근할 수 있는 권한은 일부 연구원(암역학예방연구부 김미경, 박진희)으로 제한. 연구대상자 등의 철회 시 본 연구의 목적으로 얻어진 검체 및 정보는 폐기될 것임.

6) 본 연구에 사용되는 자료는 2019년 IRB 승인일 이후 국립암센터에 내원하여 검사를 받고, 자료 제공에 동의한 대상자 정보 및 검체를 이용하여 이루어짐. 본 연구결과는 환자에게 전혀 영향을 주지 않으며, 어떤 임상적 중재도 이루어지지 않으므로 일반적으로 임상연구에서 발생할 수 있는 윤리적인 측면이 문제가 되지 않을 것으로 판단됨. 또한, 본 연구의 모든 자료는 엄격하게 연구대상자의 비밀이 유지되어 보호를 받게 되며, 본 연구의 분석을 위해 제공되는 설문과 검사의 결과는 연구 목적 외에는 다른 용도로 사용하지 않으며, 절대 비밀이 보장될 수 있도록 조치하고자 함.

■ 연구대상자의 보호방안 및 개인정보 비밀보장 방안

- 1) 개인식별정보를 최대한 신속하게 제거할 수 있도록 자체연구번호를 만들어 관리할 계획.
- 2) 개인식별정보와 연구번호를 대조할 수 있는 원본은 따로 보관하고, 그 이후의 작업 파일들은 연구번호로만 인식 가능하도록 함.
- 3) 개인식별정보가 기재된 서류는 잠금장치가 내장된 서류함에 보관되며, 개인식별 정보가 기재된 전자파일은 암호화 되어 관리함.
- 4) 암호화된 파일에 접근할 수 있는 사람은 본 연구에 직접 관련된 연구자들로 제한하여 엄격히 관리할 것임.

■ 연구자가 제공받은 연구 관련 지원 범위 : 2019년 국립암센터 기관고유연구사업비 (암화 과정에서 Microbiome-Host-Environment 상호작용의 규명, 총괄과제 1910180-1, 세부과제 1910181-1, 1910182-1, 1910183-1)

(단위 : 천원)

세목	단위	수량	금액	비고
검사비 및 진료비	500명	1건	9000	
외부 인건비			104520	
연구장비, 재료비			17800	
연구활동비			171680	
연구과제추진비			12000	
연구비 총액			315000	* 총괄과제 1910180-1 총액

■ 대상자에 대한 지원 사항 : 각 관련 센터(위암, 대장암, 비뇨기암, 췌장암, 두경부암, 구강암, 자궁경부암, 자궁내막암, 폐암, 식도암)에 내원하는 환자의 경우 지원 없음. 검진센터를 방문하여 공단검진을 시행하는 사람들 중에서 연구 참여에 동의한 연구대상자에 한하여 동맥경화도, 후두경, 골밀도 검사 중 대상자가 원하는 것 한가지를 택하여 1회 제공함. 연구기간 내(2025-12-31까지)에 검사가 이루어지며

검사 시행장소는 국립암센터 암예방검진센터이며 병원장비를 사용함. 검사 비용은 연구비(총괄과제 1910180-1, 세부과제 1910181-1, 1910182-1, 1910183-1)로 매달 정산되며, 연구대상자가 추가로 지불할 비용은 없음.

- * 동맥경화도, 골밀도, 후두경 검사비: 건당 18000원(명승권 암예방검진센터장님과 의논함. 매달 연구비 정산)

■ 연구로 인한 피해보상 계획 및 범위 : 해당 없음.

■ 동의서, 설문지 등의 서류 및 데이터 관리 방안

- 1) 연구를 위해 수집된 동의서, 설문지 등의 서류 및 데이터 정보는 잠금장치가 있는 연구실에 비밀번호가 걸린 파일로 보관함을 명시.
- 2) 연구파일에 접근할 수 있는 권한은 일부 연구원(암역학예방연구부 김미경, 박진희)으로 제한함.
- 3) 수집된 개인정보는 동의 후 10년 간 연구 관계자의 관할 하에 보유될 예정이며, 보유 기간 동안은 잠금 장치로 엄격히 관리될 것임.
- 4) 보유 기간 이후 전산 기록은 파일 삭제로, 서류에 기록된 개인정보는 서류 폐기 기계를 이용하여 삭제될 것임.
- 5) 개인식별 정보가 기재된 서류는 잠금장치가 내장된 서류함에 보관되며, 개인식별 정보가 기재된 전자파일은 암호화 되어 관리함. 암호화된 파일에 접근할 수 있는 사람은 본 연구에 직접 관련된 연구자들로 제한하여 엄격히 관리할 것임.

13. References 참고문헌

- IARC. World Cancer Report. Lyon: IARC Press; 2003.
- Chaturvedi AK, Engels EA, Anderson WF, Gillison ML. Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. J Clin Oncol 2008;26:612-9.
- Liu R, et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention. Nat Med. 2017;23(7):859-868. doi: 10.1038/nm.4358.
- Pallister T, et al. Hippurate as a metabolomic marker of gut microbiome diversity: Modulation by diet and relationship to metabolic syndrome. Sci. Rep. 2017;7(1):13670..
- Victor H. Bermudez-Morales, et al. Correlation Between IL-10 Gene Expression and HPV Infection in Cervical Cancer: A Mechanism for immune response escape. *Cancer Invest*, 26:1037-43, 2008
- Seesandra V. Rajagopala, Sanjay Vashee, Lauren M. Oldfield1,Yo Suzuki, J. Craig Venter, Amalio Telenti, et al. The Human Microbiome and Cancer. Cancer Prev Res 10:226-234, 2017