

별첨 1

자료추출 및 비뚤림위험 평가

1. 자료추출

연번(#ref)	1(#1449)			
1저자(출판연도)	Cho (2022)			
연구특성	연구설계	단면연구	대상자 모집기간	2018.07. ~ 2019.09.
	연구국가	한국	연구기관 정보	서울 아산병원

■ 연구목적

1차 치료요법인 플루오로피리미딘-플래티늄(fluoropyrimidine-platinum)과 트라스주맙(trastuzumab)의 병용치료를 받은 HER2+ 진행성 위암 환자를 대상으로 NK 세포 활성도의 예후가치를 평가하기 위함

■ 대상환자

- 환자군 정의: 대상자 모집기간 동안 서울아산병원을 방문한 환자
- 선택기준
 - First-line fluoropyrimidine-platinum doublet와 트라스투주맙(Trastuzumab) 치료받은 이력이 있는 HER2+ 진행성 위암 환자
- 배제기준
 - 기록 없음
- 환자의 일반적 특성 (N=41)

연구방법

	위암			p
	Total	NK 세포 활성도 수치가 낮은 그룹	NK 세포 활성도 수치가 높은 그룹	
표본 수 (명)	41	21	20	
남/여 (명)	31/10	13/8	18/2	0.067
연령 (세)	63.5±9.0	63.5±9.4	63.5±8.8	0.98
중증도 good/moderate or poor (명)	12/29	3/18	9/11	0.043

■ 중재검사

- 종류: NK 세포 활성도 검사
- 사용시약: NK Vue[®] (NKMAX, Seongnam, Korea)
- 검체: 혈액(전혈)
- 분석방법: ELISA(효소면역법, enzyme-linked immunosorbent assay)

■ 질병과의 관련성: 기록 없음

■ 치료과정 모니터링 관련 지표

- 추적관찰기간: 20개월

연구결과

- 2 arm 분석: 1차 치료요법인 플루오로피리미딘-플래티늄(fluoropyrimidine-platinum)과 트라스주맙(trastuzumab)의 병용치료를 받은 환자를 대상으로 74.1 pg/mL을 기준(중위수 값)으로 NK 세포 활성도 수치가 낮은 그룹(Low group)과 높은 그룹(High group)간 비교함

연번(#ref)	1(#1449)
1저자(출판연도)	Cho (2022)

연구 대상		결과변수	치료 전	치료 후	p
위암 환자	전체(38명)	NK 세포	중위수: 74.1	중위수: 393.7	<0.001
	Low group(19명)	활성도	중위수: 40.0	중위수: 247.1	0.001
	High group(19명)	(pg/mL)	중위수: 246.1	중위수: 840.6	0.006
NK, Natural killer					

결과지표		NK 세포 활성도 검사 수치			
		전체 환자 (n=41)	Low group (n=21)	High group (n=20)	Low vs. High p
객관적 반응률, %		68.2	86.7*	85.7*	>0.99
반응 지속 기간**, 개월		중위수:10.6 (범위: 5.3-19.9)	중위수: 3.29	중위수: 8.28	<0.001
무진행 질병 생존 기간	생존 기간, 개월	중위수: 7.43 (95% CI: 5-9.5)	중위수: 4.21	중위수: 9.53	<0.001
	위험률(HR) [§]	-	단변량분석, HR 4.87	다변량분석, HR 4.35	0.001 0.007
전체 생존 기간	생존 기간, 개월	중위수: 17.82 (95% CI: 8.2-NA)	중위수: 8.15	중위수: 17.82	0.025
	위험률(HR) [§]	-	단변량분석, HR 2.92		0.032
CI, Confidence Interval; NK, Natural killer; NS, Not significant; NA: Not applicable; HR, Hazard ratio(무진행 질병 생존 기간 및 생존기간에 대한 위험률) *전체 환자 중 병변 크기 측정이 가능한 환자(Low group 15명, High group 14명)를 대상으로 완전 및 부분관해 환자 비율을 측정함 **완전 및 부분관해 환자를 대상으로 측정함. 완전관해는 0명이었고, Low group 중 부분관해 13명과 High group 중 부분관해 12명을 대상으로 측정함 §다변량 분석시 High group을 reference로 함. 나이, 성별을 보정 진행함					

- 3 arm 분석: NK 세포 활성도 수치가 낮은 그룹(Low group) 중 활성도 수치가 250pg/mL 미만으로 유지되면 '지속적으로 NK 세포 활성도 수치가 낮은 그룹(Persistently low group)'으로 배정되었고, 250pg/mL 초과면 '회복된 그룹(recovered group)'으로 배정함. 지속적으로 NK 세포 활성도 수치가 낮은 그룹(Persistently low group), 회복된 그룹(Recovered group), 높은 그룹(High group)간 비교함

결과지표		NK 세포 활성도 검사 수치			p
		Low group (n=15)		High group (n=14)	
		Persistently low group (n=7)	Recovered group (n=8)		
객관적 반응률, %		85.7	87.5	85.7	>0.999
반응지속기간*, 개월		중위수: 2.68	중위수: 5.72	중위수: 8.28	<0.001
무진행 생존기간**, 개월		중위수: 3.78	중위수: 6.51	중위수: 9.53	<0.001
전체 생존기간 [§] , 개월		중위수: 6.02	중위수: 18.25	NA	<0.001
NK, Natural killer; NS, Not significant; NA: Not applicable † 업데이트 체계적 문헌고찰을 통해 선택된 문헌 *완전 및 부분관해 환자를 대상으로 측정함. 완전관해는 0명이었고, Low group 중 부분관해 13명(Recovered group: 7명, Persistently low group: 6명)과 High group 중 부분관해 12명을 대상으로 측정함 **High group vs. Recovered group, P=0.195; High group vs. Persistently low group, p<0.001; Recovered group vs. Persistently low group, p=0.038 §High baseline group vs. Recovered group, p>0.999; High baseline group vs. Persistently low group, p<0.002; Recovered group vs. Persistently low group, p=0.003					

결과지표		NK 세포 활성도 검사 수치		p
		Persistently low group (n=7)	Recovered+High group (n=22)	
무진행 생존 기간, 개월		중위수: 3.78	중위수: 6.25	0.014
전체 생존 기간, 개월		중위수: 6.02	중위수: 17.82	0.009
NK, Natural killer				

결론	NK 세포 활성도가 HER2+ 진행성 위암 환자를 대상으로 예후가치(prognostic value)를 보여줄 수 있음
-----------	---

연번	2
1저자(출판연도)	Lee(2017)

연구특성	연구설계	환자 대조군 연구	대상자 모집기간	2015.07. ~ 2016.08.
	연구국가	한국	연구기관 정보	서울성모병원

■ 연구목적

위암에 대한 NKA-IFN γ 의 진단 성능을 확인하기 위함

■ 대상환자

- 환자군 정의: 대상자 모집기간 동안 서울성모병원 암센터를 방문한 환자
- 선택기준
 - 위암으로 진단받은 환자 (환자들 중 수술 전 치료나 기타 화학요법을 받은 사람은 없었음)
- 배제기준
 - 기록 없음
- 환자의 일반적 특성 (N=309)

	위암	건강대조군	p
표본 수	261	48	<0.001
남/여	162/99	23/25	<0.066
연령(year)	60.5±12.5	43.5±10.4	0.004

연구방법

■ 중재검사

- 종류: NK 세포 활성화도 검사
- 사용시약: NK Vue-Kit(ATgen, Sungnam, Korea)
- 검체: 혈액(전혈)
- 분석방법: EIA(Enzyme immunoassays)

■ 비교검사

- ① Routine tumor marker tests (CEA)
 - 검사명: Routine tumor marker tests (CEA)
 - 사용기기: 기록 없음
 - ② Routine tumor marker tests (CA19-9)
 - 검사명: Routine tumor marker tests (CA19-9)
 - 사용기기: 기록 없음
- 참고표준검사: 조직학적 연구 또는 내시경적 생검

■ 질병과의 관련성

- 암 유무 별 NK 세포 활성화도 검사와 비교검사의 수치 비교

연구결과

	환자군		대조군		p
	N	median (95% CI)	N	median (95% CI)	
NK 세포 활성화도 검사(pg/mL) (=인터페론 감마 농도)	261	1,520 (818.6-1,970.1)	48	204.8 (174.4-260.5)	<0.001
CEA(ng/mL)	50	0.8 (0.6-1.4)	48	1.4 (1.3-1.6)	0.010
CA19-9(U/mL)	261	6.6 (4.6-9.6)	48	8.8 (7.4-9.7)	NS

CEA, carcinoembryonic antigen; CA19-9, carbohydrate antigen 19-9; NK, Natural killer; NS, Not significant

- 암 중증도 별 NK 세포 활성화도 검사 수치 결과

연번	2
1저자(출판연도)	Lee(2017)

- NK 세포 활성화도 검사 결과, 위암 3기에 비해 위암 4기인 환자군에서 NK세포 활성화도 검사 결과 유의하게 낮았음(P=0.001)

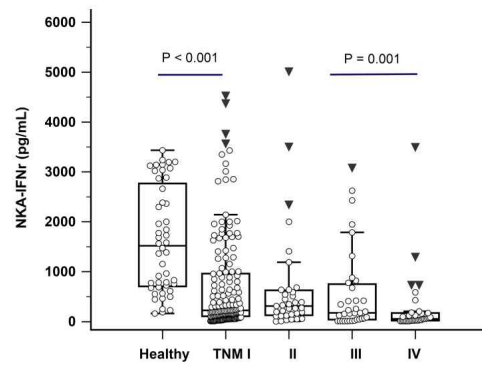


Figure 3: NKA-IFN γ levels in healthy donors and gastric cancer patients according to TNM stage (I-IV). In box plots, central box represent the 25th to 75th centiles, the lines within the boxes represent the median and error bars represent 95% confidence interval for the medians.

■ 치료과정 모니터링 관련 지표: 기록 없음

결론

인터페론감마를 생산하는 NK Cell 활성화도 수치는 위암을 진단하는데 있어, 비침습적 종양마커로 사용될 여지가 있음

2. 비돌림위험 평가

연번(#ref)		1(#1449)	
1저자(출판연도)		Cho (2022)	
비뚤림위험 평가(RoBANS 2.0)			
영역	설명	비뚤림 위험	판단근거(논문인용)
대상군 비교가능성	비교가 부적절한 대상군 선정 으로 인해 발생한 선택 비뚤림	<div><div>■ 낮음</div><div><input type="checkbox"/> 높음</div><div><input type="checkbox"/> 불확실</div></div>	<div>- 위암환자 대상으로 질병의 중등도 등 기저상태가 두 군이 유사함</div> <div>→ (논문인용) A higher proportion of patients in the low baseline NK group belonged to the moderate and poor risk groups (85.7% vs. 55.0%, P = 0.043), and the low baseline NK group had a higher neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) value (median 3.0 vs. 2.0, P = 0.048) compared with the high baseline NK group; otherwise, the baseline characteristics were similar between the two groups.</div>
대상군 선정	부적절한 중재 혹은 노출군 또 는 환자군 선정으로 발생한 선 택 비뚤림	<div><div>■ 낮음</div><div><input type="checkbox"/> 높음</div><div><input type="checkbox"/> 불확실</div></div>	<div>- 선정기준을 제시함</div> <div>→ (논문인용) Between July 2018 and September 2019, 44 patients with histologically documented HER2+advanced gastric cancer received fluoropyrimidine-platinum doublet and trastuzumab as frst-line treatment at Asan Medical Center, Seoul, Republic of Korea.</div>
교란변수	교란변수 확인과 고려가 부적 절하여 발생한 선택 비뚤림	<div><div>■ 낮음</div><div><input type="checkbox"/> 높음</div><div><input type="checkbox"/> 불확실</div></div>	<div>- 교란변수 보정함</div> <div>→ (논문인용) In the multivariate analysis, backward selection was applied and variables exhibiting a potential association with survival (P < 0.25) in the univariate analysis, along with age and sex, were included.</div>
노출 측정	부적절한 중재 혹은 노출 측정 으로 인해 발생한 실행 비뚤림	<div><div>■ 낮음</div><div><input type="checkbox"/> 높음</div><div><input type="checkbox"/> 불확실</div></div>	<div>- 중재검사에 대한 구체적 방법을 제시함(측정의 객관화)</div> <div>→ (논문인용) Peripheral blood was sampled before the initiation of treatment (baseline) and after two cycles of treatment. The principle of the NK Vue® is the sampling of peripheral blood into a patented test tube, incubation, and estimation based on enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) findings. Specifically, 1 mL of whole blood was drawn from the patient into NK Vue® tubes (NKMAX, Seongnam-si, Republic of Korea) and placed in an incubator at 37 °C within 15 min of sampling. Following 24 h of stimulation, the plasma interferon-γ level was measured using the NK Vue® Gold (NKMAX ELISA) as a surrogate marker of NK cell activity.</div> <div>- 의무기록 데이터로 진행함</div> <div>→ (논문인용) The following patient data were extracted from the medical records and analyzed</div>

연번(#ref)	1(#1449)		
1저자(출판연도)	Cho (2022)		
평가자의 눈가림	부적절한 평가자 눈가림으로 인해 발생한 확인 비돌림	<input type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input checked="" type="checkbox"/> 불확실	- 언급 없음
결과 평가	부적절한 결과 평가 방법으로 인 해 발생한 결과 확인 비돌림	<input checked="" type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input type="checkbox"/> 불확실	- 객관적인 검사결과 값을 결과지표로 제시함 → 1. 객관적 반응을, 2. 반응지속기간, 3. 생존기간을 사용하였으며, 결과 평가가 신뢰성 있는 방법으로 이루어졌다고 판단되어 비돌림을 낮게 평가함
불완전한 결과자료	불완전한 자료를 부적절하게 다루어 발생한 탈락 비돌림	<input checked="" type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input type="checkbox"/> 불확실	- 중재군과 비교군 모두 탈락률이 0%임(중도탈락한 자 없음)
선택적 결과 보고	선택적 결과 보고 때문에 발생 한 보고 비돌림	<input checked="" type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input type="checkbox"/> 불확실	- 연구 방법에 따른 결과가 모두 보고됨
민간연구비 지원		<input checked="" type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input type="checkbox"/> 불확실	→ (논문인용) Conflict OF interest: Conflict of interest The authors declare that they do not have any conflict of interest.

연번	2		
1저자(출판연도) Lee(2017)			
비뚤림위험 평가(RoBANS)			
영역	설명	비뚤림 위험	판단근거(논문인용)
대상군 비교가능성	비교가 부적절한 대상군 선정 으로 인해 발생한 선택 비뚤림	<input type="checkbox"/> 낮음 <input checked="" type="checkbox"/> 높음 <input type="checkbox"/> 불확실	- 건강대조군과의 비교결과가 제시됨
대상군 선정	부적절한 중재 혹은 노출군 또 는 환자군 선정으로 발생한 선 택 비뚤림	<input checked="" type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input type="checkbox"/> 불확실	- 선정기준을 제시함 → (논문인용, 환자군) They were diagnosed as GC based on histology study or endoscopic biopsy. None of these patients received preoperative treatment or chemotherapy. Their cancer stages were determined according to the 7th American Joint Committee on Cancer (AJCC) GC TNM Staging System. → (논문인용, 건강대조군) As control group, 48 healthy donors were also investigated. All participants were free from any inflammatory diseases without prior use of immunosuppressive agents.
교란변수	교란변수 확인과 고려가 부적 절하여 발생한 선택 비뚤림	<input type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input checked="" type="checkbox"/> 불확실	- 언급 없음
노출 측정	부적절한 중재 혹은 노출 측정 으로 인해 발생한 실행 비뚤림	<input checked="" type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input type="checkbox"/> 불확실	- 중재검사에 대한 구체적 방법을 제시함(측정의 객관화) → (논문인용) NKA-IFN γ was determined by enzyme immunoassay using NK Vue-Kit (ATgen, Sungnam, Korea) as described previously. Fresh whole blood (1 ml) was obtained using tubes containing PromocaH and RPMI 1640 media and incubated at 37 $^{\circ}$ C less than 1 hour after collection. After incubation at 37 $^{\circ}$ C for 20-24 hours, cell-free supernatants were harvested and IFN γ levels were measured according to the manufacturer's instructions. Briefly, 50 μ L of six standards, controls, and samples were incubated in antihuman IFN γ coated plate at room temperature for 2 hours and washed with washing buffer. After the addition of IFN γ conjugate, the plate was incubated at room temperature for 1 hour and washed. After washing, 100 μ L of substrate solution was added and incubated at room temperature for 30 min in the dark. Absorbance value was measured at wavelength of 450 nm. Concentrations of IFN γ were determined with a calibration curve. The measuring range was 0.1-4000 pg/mL and total imprecision for two levels of controls were less than 15% CVs.
평가자의 눈가림	부적절한 평가자 눈가림으로 인해 발생한 확인 비뚤림	<input type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input checked="" type="checkbox"/> 불확실	- 언급 없음

연번	2		
1저자(출판연도)	Lee(2017)		
결과 평가	부적절한 결과 평가 방법으로 인해 발생한 결과 확인 비돌림	<input checked="" type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input type="checkbox"/> 불확실	- 객관적인 검사결과 값을 결과지표로 제시함 → 1. 암 유무 별 NK세포 활성화도 검사와 비교검사의 측정결과, 2. 암 중증도 별 NK세포 활성화도 측정결과를 제시하였으며, 결과 평가가 신뢰성 있는 방법으로 이루어졌다고 판단되어 비돌림을 낮게 평가함
불완전한 결과자료	불완전한 자료를 부적절하게 다루어 발생한 탈락 비돌림	<input checked="" type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input type="checkbox"/> 불확실	- 중재군과 비교군 모두 탈락률이 0%임(중도탈락한 자 없음)
선택적 결과 보고	선택적 결과 보고 때문에 발생한 한 보고 비돌림	<input checked="" type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input type="checkbox"/> 불확실	- 연구 방법에 따른 결과가 모두 보고됨
민간연구비 지원		<input checked="" type="checkbox"/> 낮음 <input type="checkbox"/> 높음 <input type="checkbox"/> 불확실	→ (논문인용) Funding: This work was supported by the Technology Innovation Program (No: 10049771, Development of Highly-Specialized Platform for IVD Medical Devices) funded By the Ministry of Trade, industry & Energy (MI, Korea) and by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (MSIP) (NRF-2017R1A2B4011181), Republic of Korea Conflict OF interest: The authors have no conflicts of interest to declare.