

KSGD News Forum

Korean Society for Genetic Diagnostics

Vol.08 / Dec, 2019

대한진단유전학회 뉴스포럼 발행인 전창호 | 간행이사 고대현 | 간행위원 박혜원 최종문 서수현 | 편집 (주) 트리니티컴즈

Focus on

유전체역학의 최신 동향

박지완 (한림대학교 의과대학 의학유전학교실)

Technology Trend

cobas® HPV Test

자궁경부암 DNA 검사(로슈 인유두종 바이러스 검사)

이경아 (연세의대 강남세브란스병원)

학회 참관기

ASHG 2019 학회참관기

박경진(명지병원 진단검사의학과)

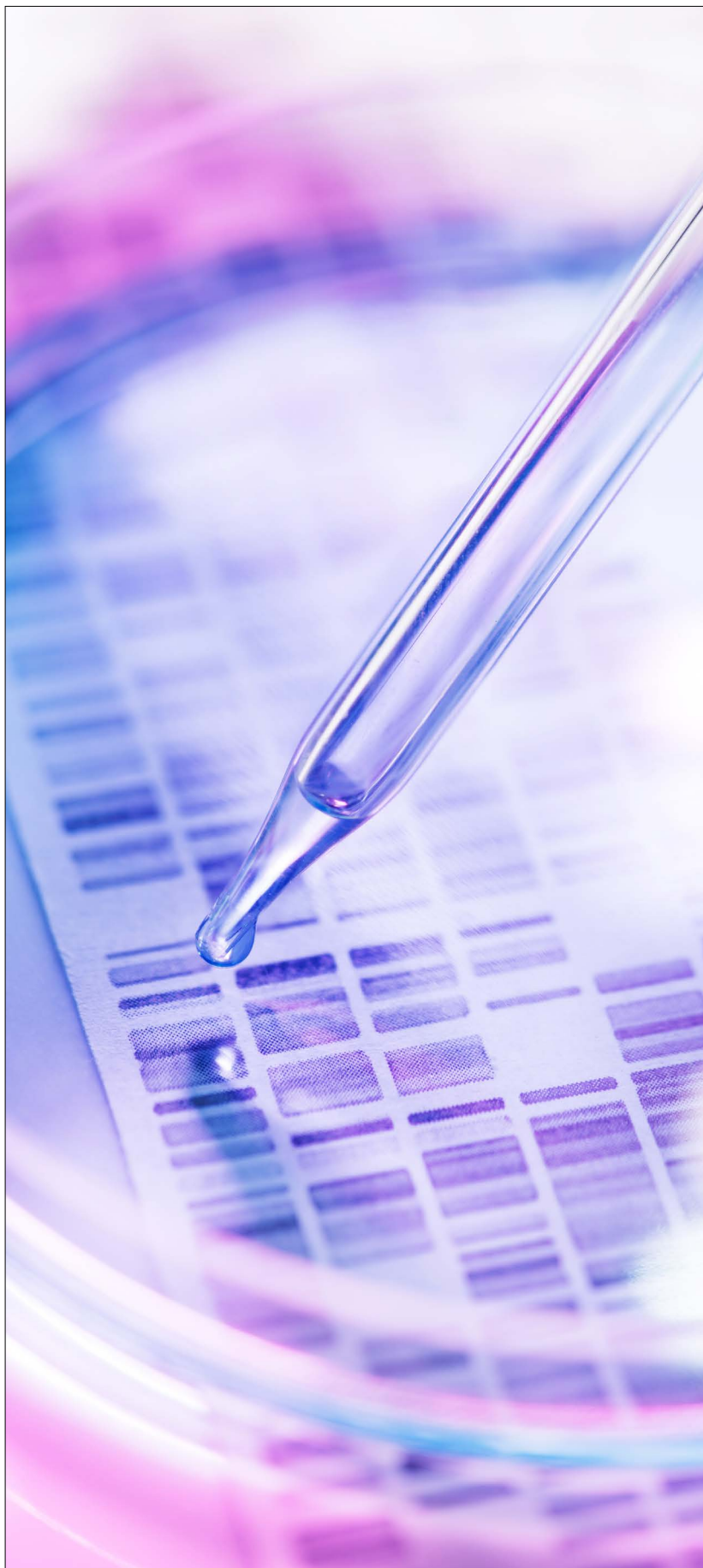
Notable Research

DNA Microscopy: Optics-free Spatio-genetic Imaging by a Stand-Alone Chemical Reaction

최종문 (녹십자의료재단/녹십자지놈 진단검사의학과 전문의)

최신보험정보

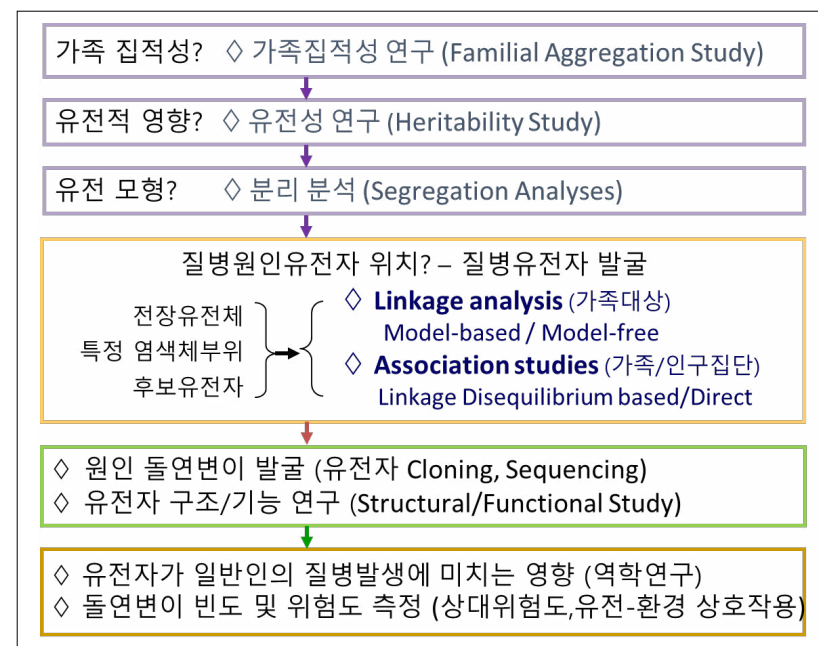
학회뉴스



유전체역학의 최신 동향

박지완 (한림대학교 의과대학 의학유전학교실)

유전체역학(Genomic Epidemiology)은 인구 집단내 질병 발생의 원인이 되는 유전과 환경 요인 및 그 상호작용을 밝히고 그 결과를 질병의 예방과 보건으로 향상에 활용하는 역학의 한 분야이다.^[1]



[그림1] 유전역학 연구단계

Project, 2002-2010) 성과와 더불어 대용량 DNA 마이크로어레이 칩(Microarray Chip) 기술이 개발되면서 단일염기다형성(Single Nucleotide Polymorphism, SNP) 마커 정보를 이용한 전장 유전체 연관성 연구(Genome-wide Association Study, GWAS)가 복합 질환의 감수성 유전 변이(Susceptibility Genetic Variants)를 발굴하는데 중요한 역할을 하게 되었다.

CDC Centers for Disease Control and Prevention
CDC 24/7: Saving Lives. Protecting People.™

Public Health Genomics and Precision Health Knowledge Base (v6.0)

Phenopedia

Recommend Tweet Share

Last data update: Nov 22, 2019 (Total: 3203 diseases)

Alzheimer Disease Search

Alzheimer Disease

Related Diseases

1917 genes has been reported with Alzheimer Disease Download

Associated Gene	Total Publication	Meta-analysis Publication
APOE	1780	103
CLU	107	22
PSEN1	97	8
PICALM	92	18
MAPT	91	7
CR1	87	19
BDNF	83	4
SORL1	78	12
ACE	76	11
ABCA7	72	13
BIN1	60	17
APP	60	2

[그림2] HuGE Navigator (www.phgkb.cdc.gov/PHGKB)

질병 유전변이 분석법의 발달

질병원인연구의 첫 단계로 가계 정보를 분석하여 질병 발생의 가족집적성과 질병의 유전성을 파악한다. 유전성이 있다고 판단 되는 경우 멘델유전, 다유전자 유전, 또는 복합유전질환 여부를 최적유전모델(Best Fit Genetic Model) 분석을 통하여 추정한다. 1955년Newton Morton이 LOD Score 기반의 링키지 분석법(Linkage Analysis)을 개발하여 발표한 이후, 가계 유전정보를 분석하여 약 2,200 종 이상의 단일유전자질환의 원인 유전자의 위치를 추정 하였다.^[2] 이어서 질병 발생과 연관된 유전변이를 발굴하는 방법으로 인구집단기반 가족 또는 환자-대조군 대상으로 후보 유전자(Candidate Genes) 연관성 연구(Association Study)가 진행되었다. [그림1]

2000년에 들어서면서 인간유전체사업(Human Genome Project, 1990-2003), 국제 일배체형 지도화 사업(International HapMap

바이오뱅크 구축과 빅데이터 생산

GWAS에서 충분한 통계적 검정력을 확보하고 원인과 결과의 시간적 선후관계(Temporal Relationship)에 근거한 질병원인연구를 위해서는 대규모 샘플과 장기 추적조사가 필요하므로 영국 인체자원은행(UK Biobank), 일본 인체자원은행 (Biobank Japan) 등 각국에서 인체 자원 연구인프라를 경쟁적으로 구축하게 되었다.

국내에서도 질병관리본부가 2001년부터 대규모 코호트 사업인 한국인 유전체 역학조사사업(Korean Genome and Epidemiology Study; KoGES)을 시작하여 지역 사회기반, 농촌, 도시 코호트 등 다양한 코호트를 구축하고 기반 조사 기준23만 명이 넘는 참여자로부터 각종 임상·역학 정보와 혈액 등 인체자원을 수집하였다. 또한, 2008년부터 전국 대학병원 소재 17개 인체 유래물 단위은행에서 수집한 45만 명의 환자 유래 혈청, DNA, 조직 등을 국립 중앙인체자원은행을 통해 연구자에게 공개 분양하고 있다.^[3] 또한, 2016년부터 국립보건 연구원산하 임상 유전체 생명정보 시스템(Clinical & Omics Data Archive, CODA)이 개설되어 국가과제에서

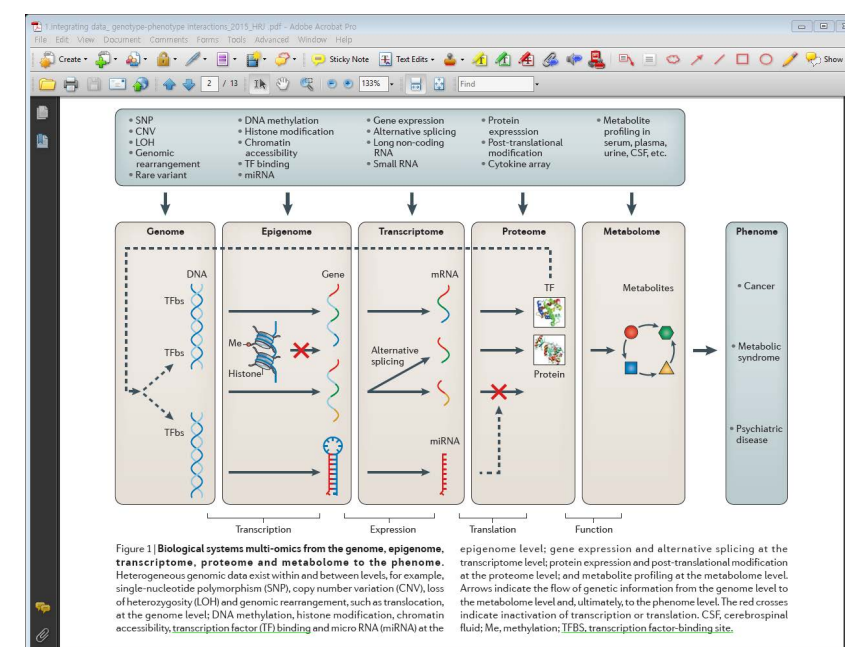
생산하여 기탁한 임상데이터와 유전체데이터를 연구목적으로 분양하고 있고, 국가 생명연구자원 정보센터(Korean Bioinformation Center, KOBIC)는 생산된 유전체 정보의 관리 및 분석 기반구축 사업에 노력하고 있다.

전 세계에서 막대한 질병 유전체 정보가 생산되고 있고 이를 활용하기 위한 데이터베이스 및 공유 플랫폼이 경쟁적으로 개발되고 있다. 예를 들어, 유럽 생물 정보학 연구소(EMBL-EBI)는 연구자의 편의를 위하여 현재까지 발표된 GWAS 결과를 쉽게 찾아볼 수 있도록 GWAS Catalog를 공개하고 있는데, 2019년 5월 기준 138,312 유전변이-형질 연관성에 관하여 발표된 3,989개의 논문 결과를 수록하고 있고 그 수는 계속 증가하고 있다 (www.ebi.ac.uk/gwas). 또한, 1998년 미국 질병통제 예방센터의 Muin Khoury 박사를 중심으로 인간 유전체 역학 네트워크 'Human Genome Epidemiology Network(HuGENet)'과 보건 유전체 정밀 건강 지식베이스 'Public Health Genomics and Precision Health Knowledge Base(PHGKB)'가 구축되어 다양한 질환 유전체 정보를 제공하고 있다. [그림2]

오믹스 기반 질병 연구와 정밀 의료

SNP Chip을 이용한 간접 GWAS는 2006년부터 차세대 염기서열(Next Generation Sequencing, NGS) 분석기술개발과 1000 유전체 사업(1000 Genome project, 2008-2010)의 결과 진화하여, 이제 SNP 뿐만 아니라 삽입-결실 변이(Insertion-deletion, Indel), 복제수 변이(Copy Number Variation, CNV), 구조 변이(Structural Variants, SV) 등 전장 유전체에 존재하는 다양한 염기서열변이를 대상으로 직접 GWAS 분석을 할 수 있게 되었다.

최근에는 유전체(Genome)뿐만 아니라 후성유전체(Epigenome), 전사체(Transcriptome), 단백체(Proteome), 대사체(Metabolome) 등 다양한 오믹스(Omics) 정보가 생산되고 대용량 환경(Exposome) 정보 및 형질(Phenome) 정보를 통합한 질병원인연구가 진행되고 있다. [그림3]



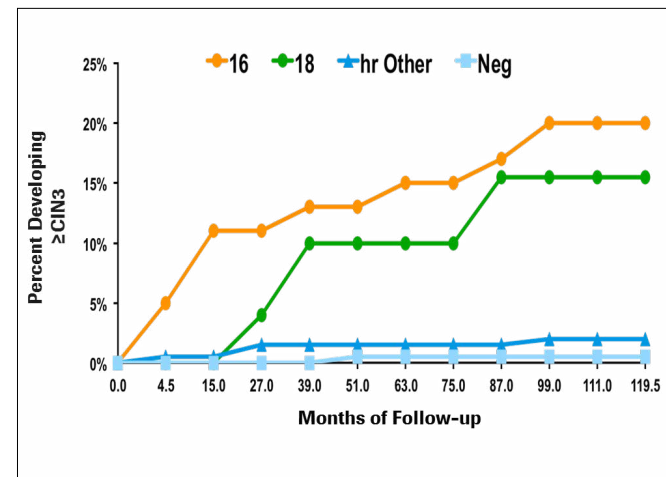
[그림3] 다중오믹스 분석(Multi-Omics Analysis)을 통한 표현형(Phenome) 연구 (Ritchie et al. 2015)^[6]

유전체역학연구에 오믹스 정보를 활용함으로써 환경과 유전의 상호작용에 따른 질병의 발생 양상을 보다 구체적으로 평가할 수 있게 되었지만 유전체 정보를 제외한 다른 오믹스 정보들은 세포 종류나 인체 발생 시기에 따라 다른 발현 양상을 보이는 등 정보의 불안정성과 분석의 복잡성 등 해결해야 할 난제들이 있다. 또한, 디지털 정보(Digital Information)화 및 공유 정보의 축적으로 대규모 데이터 분석(Big Data Analysis)을 위한 기반 구축과 복잡 정보의 통합 분석방법 개발, 신뢰할 수 있는 결과 도출을 위한 연구설계 방법 개발 등 많은 도전에 직면하고 있다.^{[4][5]} 2015년 미국의 정밀의료사업(Precision Medicine Initiative)이 발표되고 중국을 포함한 여러 나라에서 대규모 정밀의료사업을 추진하면서 세계적 보건의로 패러다임이 예방·맞춤의학 및 정밀의료로 전환되고 있다. 앞으로 대용량 정보분석의 중요성이 강조되고 오믹스 정보를 통합한 유전체 역학 연구가 더욱 활성화될 것이다.

[참고문헌]

- [1] Muin Khoury et al. Human Genome Epidemiology, 2nd Ed. Oxford University Press, New York 2010.
- [2] Altshuler D, Daly MJ, Lander ES. Genetic mapping in human disease. Science. 2008; 7;322:881-8.
- [3] 한국인 유전체역학조사사업(KoGES) 연구 활성화를 위한 쉽게 배우는 코호트 자료 분석 교육 실시 (2018.6.4 보도참고자료, 질병관리본부 유전체역학과)
- [4] National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. 2017. Using 21st Century Science to Improve Risk-Related Evaluations. Washington, DC: The National Academies Press.
- [5] Chu SH, et al. Integration of Metabolomic and Other Omics Data in Population-Based Study Designs: An Epidemiological Perspective. Metabolites. 2019;9, pii: E117.
- [6] Ritchie MD, et al. Methods of integrating data to uncover genotype-phenotype interactions. Nat Rev Genet. 2015;16:85-97.

cobas® HPV Test



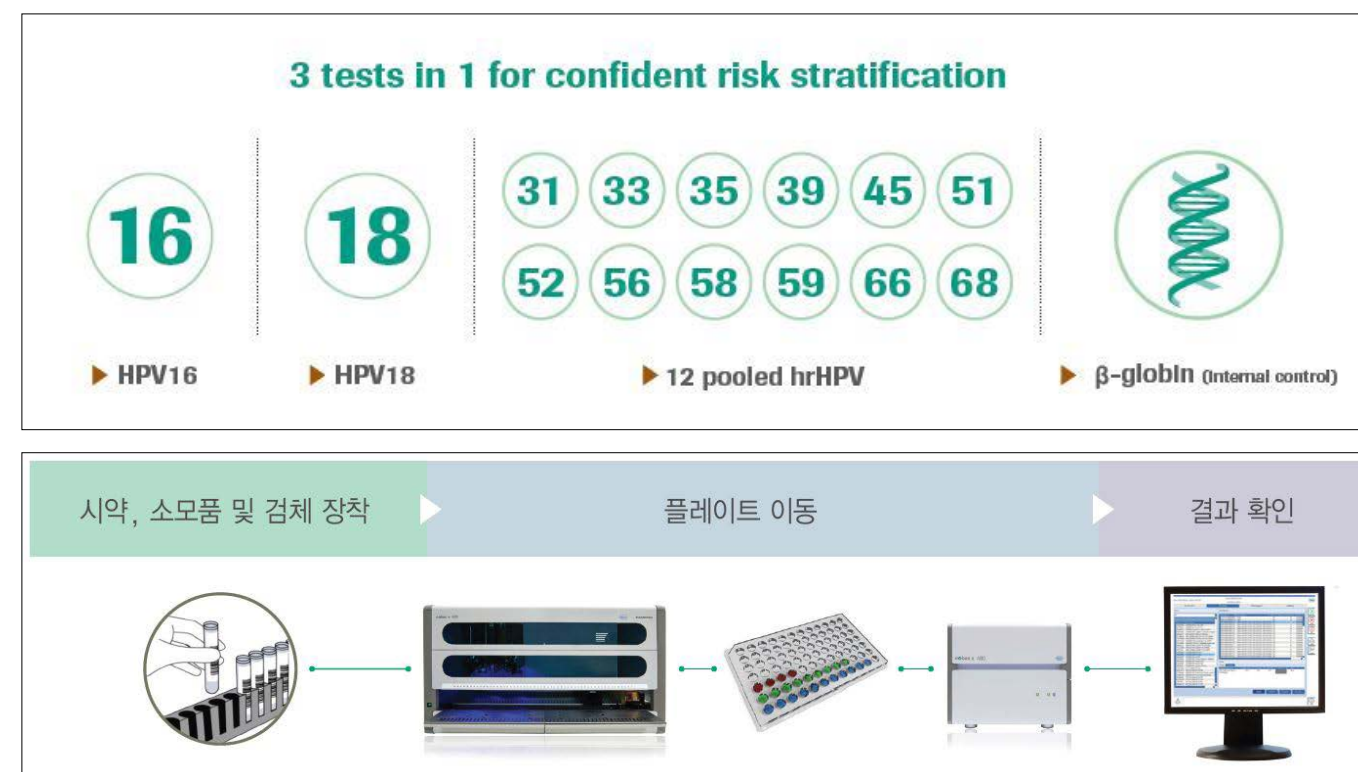
전 세계적으로 자궁경부암 발병률은 감소하고 있는 추세다.^[1] 반면 한국의 경우, 2016년부터 만 12세 여성 청소년을 대상으로 자궁경부암 백신 접종비용을 지원하고^[2], 국가암검진 프로그램의 일환으로 만 20세 이상의 여성들에게 2년에 한 번씩 무료로 자궁경부 세포검사를 제공하는 등 예방정책을 펼쳐오고 있음에도 불구하고^[3] 자가 증가하는 추세를 보이고 있다.^[4] 자궁경부암은 암에서 진행되기까지 전암단계를 상당 기간 거치기 때문에 자궁경부 세포검사와 함께 HPV 검사를 정기적으로 받으면 충분히 예방할 수 있어^[5] 전 세계적으로 HPV DNA 검사에 대한 관심이 높아지고 있다.

자궁경부암에서 HPV DNA 검사의 목적은 일시적인 High Risk HPV 감염으로부터 CIN2로 진행될 환자들을 선별하기 위해 필요하다. 그렇기 때문에 HPV DNA

검사에서는 임상적 민감도를 증가시킬 경우, 위양성이 매우 높아질 우려가 있기 때문에 주의를 해야 한다.^[6] 기존의 경우, 민감도는 높으나 CIN3+와 CIN2+에 대한 특이도가 낮기 때문에 US-FDA에서는 2014년 이전까지 HPV DNA 검사 제품(Real Time PCR)에 대해서 선별 검사로서 승인을 하지 않았다.^[7]

cobas HPV^[10]의 경우, 21세 이상 4만 7천여명의 여성으로 진행한 ATHENA Trial^[8]을 통하여 CIN2 이상의 임상적 민감도를 확인하였으며, 2014년도 US-FDA로부터 자궁경부암 선별검사로서 승인을 받았으며^[9] 국내 식약처에서도 선별검사 가능 제품으로 승인을 받았다. (KMFMS^[10], US-FDA, CE-IVD 승인)

ATHENA Trial^[8]은 자궁경부암 선별검사에 대하여 ASC-US Triage, Co-testing(30세 이상, Cytology+HPV 동시 검사) 및 HPV Test의 선별검사(25세 이상)에 대하여 HPV DNA Test에 대하여 연구한 건이다. 이를 통하여 16형 및 18형 고위험군 HPV 양성 반응을 보인 여성은 자궁경부 세포검사에서 정상으로 판명되어도, HPV가 없는 여성에 비해 자궁경부암의 전암(Pre-cancer)단계로 발전할 확률이 35배 높다는 사실을 확인하였다.



cobas HPV10은 16형, 18형 HPV를 포함, 주요 고위험군 HPV 바이러스 14개를 Real-time PCR 기법으로 분석하여 제공하여 1회 검사만으로도 3가지 결과를 한번에 확인할 수 있다. 이를 통하여 자궁경부암 환자를 확인하는데 있어 불필요한 유전자형은 배제하고, 고위험군 환자들에 대한 구분이 가능하다. 더불어 Internal Control을 보유하고 있어, 위음성에 대한 위험을 배제할 수 있다.

cobas HPV를 검사할 수 있는 장비는 cobas 4800 System^[10]에서 가능하다. cobas 4800 System은 하나의 장비에서 cobas HPV뿐만

아니라 Virology(HBV, HCV, HIV, CMV), Microbiology 및 Oncology(Cell Free DNA EGFR)등 12가지 Assay를 진행할 수 있는 장비로, Primary Tube를 바로 장착할 수 있어 cobas HPV 검사 진행 시 간단한 Workflow를 통하여 효율적으로 검사를 진행할 수 있다.

주요 허가사항

여성의 자궁 내 경부 세포에서 인유두종 바이러스를 핵산증폭법(Real-Time PCR)으로 정성하는 체외진단분석기용 시약

- HPV 16형, 18형을 포함 총 14개 고위험군 바이러스(31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68) 확인
- 자궁경부 세포검사(Cervical Cytology) 결과 비정형 편평세포가 확인되었지만 이형세포인지 확정 진단할 수 없는 상태인 ASC-US로 분류되는 여성에서 추가적인 질확대경 검사의 필요성 확인 도움
- 자궁경부 세포검사 결과 ASC-US로 분류되는 여성에서 고위험군HPV 16, 18형의 유무 확인 위해 사용가능
- 고위험군HPV 유무 확인을 위한 자궁경부 세포검사에 부가적으로 사용 가능
- 자궁경부암 또는 고등급 병변의 발생 위험을 확인을 위한 선별검사(First-line Primary Screening Test)에 사용 가능
- 고위험군HPV 16, 18형의 유무 확인을 위한 선별검사에 사용 가능^[10]

[i] cobas 4800 HPV Amplification/Detection Kit (수허 12-2220호)/ cobas® 4800 system (수인 11-1225호)

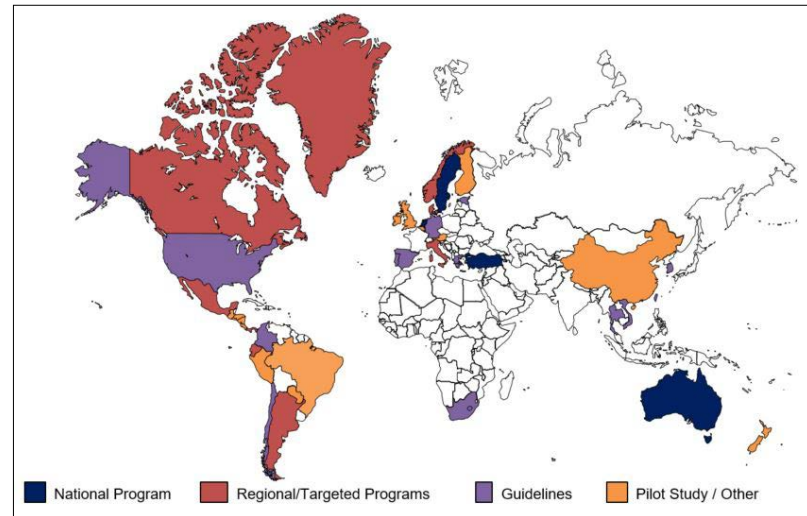
[ii] (사용목적 각주) 의사는 본 제품의 검사 결과를 세포검사, 다른 위험요인평가, 전문 가이드라인과 함께 자궁경부암 환자 관리에 사용할 수 있다. 하지만 colposcopy 검사로 진행할 것을 방지할 목적으로 사용할 수 없다.

[참고문헌]

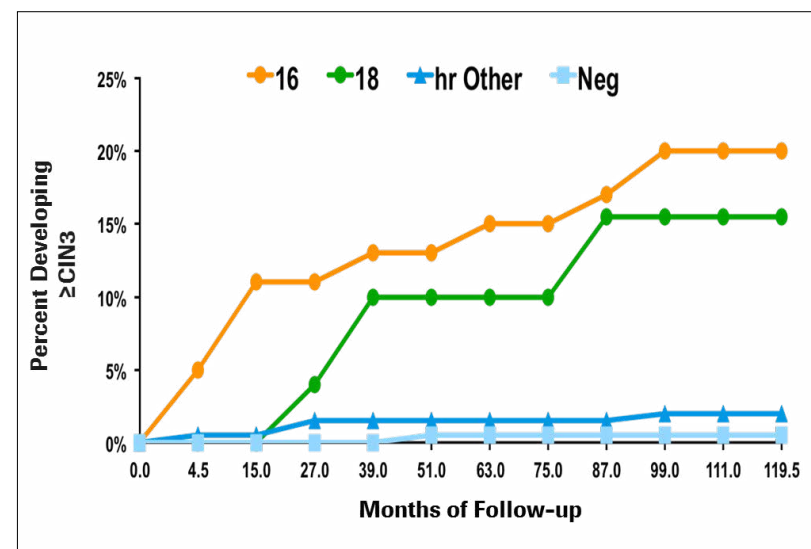
- [1] CDC, Cervical Cancer Statistics, <https://www.cdc.gov/cancer/cervical/statistics/index.htm>
- [2] 보건복지부 보도자료, 백신으로 예방할 수 있는 암 '자궁경부암', 만12세 여성청소년 대상 무료접종, 20160427
- [3] 국립암센터, 국가암검진사업, http://www.ncc.re.kr/main.ncc?uri=manage01_4
- [4] 건강보험심사평가원 보도자료, 여성이 주의해야 할 질병은 30대 갑상선, 40대 철 결핍 빈혈, 20190307
- [5] J Korean Med Assoc 2007; 50(9): 762 - 768
- [6] Meijer CJ et al. Int. J. Cancer: 124, 516-520 (2009)
- [7] Saslow et al. CA CANCER J CLIN 2012;62:147-172
- [8] Wright TC, Jr., Stoler MH, Sharma A, Zhang G, Behrens C, Wright TL. Evaluation of HPV-16 and HPV-18 genotyping for the triage of women with high-risk HPV+ cytology-negative results. Am J Clin Pathol 2011; 136: 578-586.
- [9] PMA no. P100020/S008
- [10] cobas 4800 HPV Amplification/Detection Kit (수허 12-2220호)/ cobas® 4800 system (수인 11-1225호)

자궁경부암 DNA 검사(로슈 인유두종 바이러스 검사)

이경아 (연세의대 강남세브란스병원)



[그림 1] 국가별 HPV 일차 선별 또는 동시 검사에 대한 진행 현황



[그림 2] Genotype Based Risk Stratification in ATHENA Trial

되면서 유전형 분석이 가능한 새로운 검사법 도입을 고려하게 되었는데, 로슈 cobas 4800 HPV Test는 감염질환에서 분석적 민감도가 뛰어난 Real-time PCR 기술을 채택하고 있었고, 특히 미국에서 CIN2이상, 4만 7천여 명의 여성을 대상으로 검증한 ATHENA Trial이라는 대규모의 임상 시험 결과를 통하여 설정된 임상적 임계치 (Clinical Cut-Off)를 사용하여 임상적 민감도 및 특이도를 확인할 수 있었기 때문에 진단적 신뢰도를 높일 수 있다고 판단하였다. 또한 12개의 High-risk HPV와 HPV 16/18 Genotyping의 결과에 따라 위험도를 계층화할 수 있기 때문에 통상 선별 검사를 진행할 여성과 집중적인 관리가 필요한 여성을 구분하는 데 도움을 줄 수 있다.^{[9][10]}

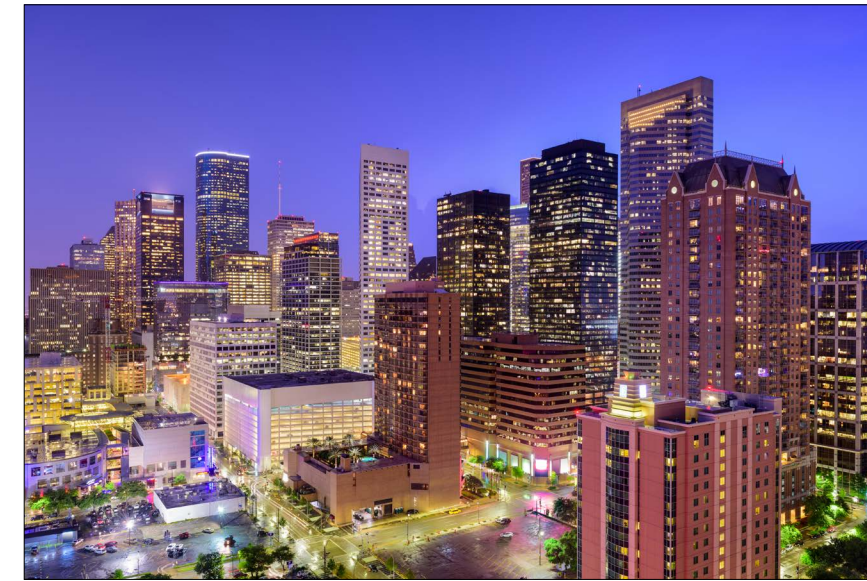
현재 본원에서는 cobas 4800 System을 사용하여 HPV DNA검사 이외에 간염(HBV, HCV)검사 및 혈장EGFR검사도 함께 운영하고 있다. Cobas System은 검체 튜브를 바로 장착하여 기기 작동을 손쉽게 진행할 수 있고, 24 Test 검사 진행 시 3시간 반 정도에 결과 확인이 가능하여 검사실에서 사용 편리성을 높일 수 있다. 이러한 시스템 운영 및 기술적 특성을 기반으로 본원에서는 환자 진료 목적 이외에도 HPV검사를 원내 건강 검진 센터에서 선별 검사로 정착화할 수 있었다.

[참고문헌]

- [1] WHO, Immunization, Vaccines and Biologicals, Human papillomavirus (HPV)
- [2] Lancet 2007; 370(9590): 890-907
- [3] GynecolOncol. 136 (2015) 189-197
- [4] J Korean Med Assoc 2007; 50(9): 762 - 768
- [5] J health tech assess 2015;3(2):107-114
- [6] CA Cancer J Clin 2012;62:147-172
- [7] 2019 ASGO Annual Meeting on Women's Cancer
- [8] Stoler MH, et al. Am J Clin Pathol. 2007;127:335-337
- [9] Saslow et al. American Cancer Society, American Society for Colposcopy and Cervical Pathology, and American Society for Clinical Pathology Screening Guidelines for the Prevention and Early Detection of Cervical Cancer
- [10] Stoler et al. High-Risk Human Papillomavirus Testing in Women With ASC-US Cytology

ASHG 2019 학회참관기

박경진(명지병원 진단검사의학과)



올해 American Society of Human Genetics (ASHG, 1948년 설립)는 미국 텍사스 휴스턴 George R. Brown Convention Center에서 10월 15-19일, 5일 동안 개최되었습니다. 올해는 280개의 회사에서 Exhibition을 선보이며, 80개 나라에서 8,409명이 참석하여 유전체 연구의 최신 지견을 공유하였습니다. 다양한 유전학 분야의 기초, 임상, 중개 연구가 Plenary Session, Platform Session, Poster Session, Education/Trainee Workshop 중 하나의 형태로 발표되었고, Career Opportunities, Networking Events 등의 프로그램도 제공되었습니다. 최신 지식을 가급적 많이 습득하는 것은 언제나 중요한 학회 참석 목적 중 하나이지만, 이처럼 동시에 개최되는 여러 세션에서 발표되는 지식을 모두 획득하는 것은 물리적으로 불가능합니다.

그래서 저는 해외학회에 참석하면 과도한 지식 획득에 대한 욕심을 버리고, 저만의 키워드를 선정해 저만의 연구 가설을 세우고 토론을 들으면서 이론적으로 검증하는 시간을 보내곤 합니다. 이번 ASHG 학회 참관기에서는 저만의 키워드(Genetic Exceptionalism, Deep Learning, Public Databases) 일부를 공유하고자 합니다.

저의 첫 번째 키워드는 Genetic Exceptionalism입니다. 프로그램 중 Presidential Symposium(“Genetic Exceptionalism - from Its Beginning To Its End”)에서 Genetic Exceptionalism의 기원, 논쟁, 미래에 대해 정리하면서 저는 다소 철학적인 시간을 보냈습니다. 유전학 분야의 Ethical, Legal, Sociaal Implication(ELSI)와 부수적 발견(Incidental Finding), 예측검사, 선별검사 등에 늘 관심이 많았던 저로서는 세 명의 Thought Leader로부터 Holistic Perspective를 들을 수 있는 기회를 얻은 것이 정말 행운이었습니다. Genetic Exceptionalism을 간단히 소개드리면, 사실 Genetics 그 자체로도 오래된 개념이지만, 1997년에 생명윤리학자인 Thomas Murray에 의해 처음 사용된 용어입니다. Thomas Murray는 주로 부정적인 의미에서 이 용어를 사용했지만, Exceptionalism 자체는 “Context”에 따라 긍정적으로 또는 부정적으로 작용할 수 있는 양날의 칼과 같습니다. 역사적으로 Genetic Exceptionalism은 Genetic Essentialism과 Genetic Determinism에서 파생된 개념으로, 유전정보는 특별하다는 아이디어에 기반합니다. 하지만 특별하지 않은 Medical Information이 있을까하고, 이번 심포지움을 들으면서 다시 생각해보게 됩니다 (“When everything in medicine is exceptional, nothing will be...”). Garrison 등에 의해 제안된 Genomic Contextualism이라는 용어로 전환되고 있는 최근 트렌드를 보면 Contextualism은 Exceptionalism라는 용어가 발생시킨 정책적 논란을 조금이라도 잠재우기에 좀 더 적절한 용어로 보입니다. 이 주제에 관심있는 독자를 위해 참고문헌 한 편 남깁니다.^[1]

저의 두 번째 키워드는 딥러닝(Deep Learning)입니다. 순전히 과학적 관점에서 딥러닝 방법에 접근하였고, 진단검사의학 전문의로서 딥러닝의 활용에 관심을 두고 살펴보았습니다. 딥러닝 스토리는 올해 두 개의 세션에 할당될 만큼 중요한 비율을 차지하였습니다: [1. Deep Learning for Interpretation of Human Genetic Variation; 유전변이의 해석, 2. A Deep Dive into Deep Learning; 복합유전질환 (Complex Disease)의 위험도 예측]. 먼저, 유전변이의 해석에 대한 내용입니다. 유전변이 해석은 전통적으로 진단검사의학과 전문의의 전문적 영역으로 내세울 수 있지만, 사실 저에게도 여전히 Challenge가 되는 영역입니다. 또한 딥러닝은 방법론적 분야에서 저에게 전혀 새로운 개념은 아닙니다. 새로운 방법이 등장한 것은 아니지만 딥러닝이라는 주제로 두 개나 되는 세션을 구성한 것은 유전체 영역의 빅데이터 이용이 가능해졌기 때문입니다. 유전변이의 해석은, 딥러닝을 포함한 다양한 알고리즘 적용 이외에도 Regulatory Genomics (Histone Marks, DNase Hypersensitivity, eQTL, etc)를 포함한 생물학적 기전 해석, 다양한 데이터베이스 활용, Clonal Hematopoiesis와 같은 Confounder의 해석, 임상 데이터의 통합 등과 같이 다양한 영역이 포함되어야 가능한 분야이며, 임상유전체학을 대표하는 주제라고 할 수 있습니다. 관심있는 독자를 위해 유전변이(Noncoding, Splicing Variants, Missense Variants) 해석을 위한 딥러닝 알고리즘 (ExPecto, Basset, DeepSEA, SpliceAI) 적용에 대한 참고문헌 몇 편 남깁니다.^[2-5]

다음으로 딥러닝을 이용한 위험도 예측에 대한 연구도 하나 소개드립니다. Complex Disease 중 하나로 Crohn's Disease의 위험도를 예측하기 위해 Polygenic Risk Score (PRS)와 Convolutional Neural Network(CNN - 딥러닝 알고리즘 중 하나)을 적용한 결과를 보여준

연구가 발표되었는데, 기대했던대로 CNN의 성능이 PRS의 성능보다 더 좋다는 결과를 보여준 연구였습니다. 구체적으로 그 이유를 살펴보니, PRS를 이용해서는 검출할 수 없는 Complex Non-Linear Effects를 보이는 Variant Combination을 CNN 방법을 이용하여 검출할 수 있었기 때문이었습니다. 이전부터 복합유전질환의 Causal Variants에는 Simple Linear Additive Effect 이상의 의미가 있을 것이라고 생각했었는데, 그 생각을 뒷받침하는 연구 결과였기에 저는 매우 흥미롭게 들었습니다. 추후 딥러닝 연구에 유전변이 정보 이외에도 Omics Data와 Environmental Data까지 통합되어 적용된다면 훨씬 흥미로운 결과가 나올 것이라고 기대합니다.

저의 세 번째 키워드는 공개 데이터베이스입니다. 불과 몇 년 전에 비해 이용 가능한 유전체 빅데이터(gnomeAD, TOPMed, ENCODE, Roadmap, GENIE, DiscovEHR 등)가 굉장히 증가하였고, Data Sharing에 대한 인식 또한 높아졌습니다. 이번 학회에서도 빅데이터를 활용한 다양한 연구(딥러닝 연구 포함)가 발표되었고, 더불어 Databases 업데이트(dbGaP ALFA Project, Colab Session)를 소개하는 세션도 있었습니다. 유전체 영역의 데이터베이스를 새로 알게 될 때마다 저는 Open Access, Open Data, Open Collaboration이라는 생태계가 점점 전 세계적으로 조성되고 있음을 실감하게 됩니다.

마지막으로 이번 학회 개최지인 휴스턴에 대해 잠깐 말씀드리면, 휴스턴은 NASA와 Medical Complex(MD Anderson Cancer Center 등) 등으로 유명한 도시입니다. 이와 더불어 저에게 휴스턴은 반가운 인연들을 만난 곳으로도 기억될 것입니다. 약속하지는 않았지만 같은 분야에 관심이 있는 한 언젠가 다시 만나게 되기를 기대합니다. Genetic Conceptualism, 데이터베이스, 딥러닝을 이용한 변이 분석에 관심 있는 선생님들께서 언제든지 저에게 연락하신다면 기쁜 마음으로 함께 하겠습니다(E-mail: unmar21@gmail.com). 학회 참관기라는 형식의 글을 처음 써보면서 ASHG라는 학회에 대해 모르는 분들에게 제가 잘못된 정보를 드리게 되는 것은 아닌지하고 염려되는 마음이 들어 조심스러웠습니다. 조금이라도 학회에 대해 더 잘 소개해드리고자 올해 처음으로 ASHG의 Strategic Plan을 찾아보았습니다. “People Everywhere Realize the Benefits of Human Genetics and Genomics Research”라는 비전이 눈에 띄었습니다. 전문가들이 모여 학회를 만들고, 유전 연구의 Benefits을 드러냄으로써 학회를 발전시키는 일은 멋있는 일이라는 생각이 들었습니다. 국내에서도 대한진단유전학회를 포함한 다양한 학회들이 더 발전하고, 사회에 더 많은 Benefits을 만들어갈 수 있기를 기대해봅니다. 내년 ASHG는 10월 27일 - 31일에 San Diego에서 개최될 예정임을 알려드리며 지극히 개인적인, 순전히 저만의 Interest에 포커싱된 학회참관기를 마치고자 합니다. 많은 분들께서 배려해주신 덕분에 ASHG 잘 다녀왔습니다. 감사합니다.

[참고문헌]

- [1] Garrison NA, Brothers KB, Goldenberg AJ, Lynch JA. Genomic Contextualism: Shifting the Rhetoric of Genetic Exceptionalism. Am J Bioeth. 2019;19(1):51-63.
- [2] Zhou J, Theesfeld CL, Yao K, Chen KM, Wong AK, Troyanskaya OG. Deep learning sequence-based ab initio prediction of variant effects on expression and disease risk. Nat Genet. 2018;50(8):1171-9.
- [3] Kelley DR, Snoek J, Rinn JL, Basset: learning the regulatory code of the accessible genome with deep convolutional neural networks. Genome Res. 2016;26(7):990-9.
- [4] Zhou J, Troyanskaya OG. Predicting effects of noncoding variants with deep learning-based sequence model. Nat Methods. 2015;12(10):931-4.
- [5] Jaganathan K, Kyriazopoulou Panagiotopoulou S, McRae JF, Darbandi SF, Knowles D, Li Yi, et al. Predicting Splicing from Primary Sequence with Deep Learning. Cell. 2019;176(3):535-48 e24.

DNA Microscopy: Optics-free Spatio-genetic Imaging by a Stand-Alone Chemical Reaction

최종문 (녹십자의료재단/녹십자지능 진단검사의학과 전문의)

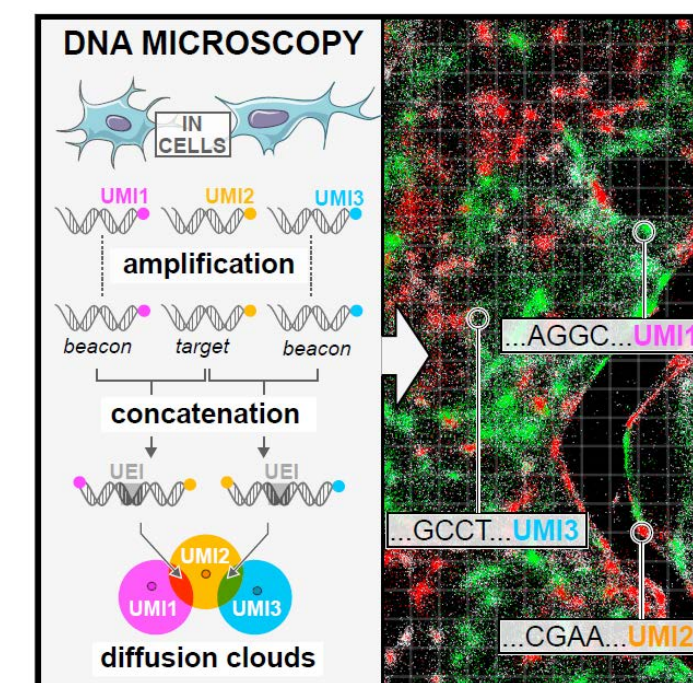
최근 세포의 유전자의 발현을 3D 영상으로 구현하는 방법이 개발되었다.^[1] 이 기술을 이용하면 마치 현미경을 보는 것처럼 유전 산물의 위치를 알 수 있다. RNA가 세포 내 어느 위치에서 Localization 되는지, 조직 내 발현이 높은 세포는 어디인지, 그 양은 얼마나 되는지 알아낼 수도 있다.

사실 여기까지는 별로 새로운 것이 없는 기술일 것이다. 단백질의 발현의 경우 화학 염색이나 면역 화학 염색은 이미 임상 영역까지 확대 되어 있다. 특히 형광 현미경을 이용하면 원하는 종류의 단백질을 쥐, 토끼, 사람, 소, 종류별로 항 단백질 항체를 인터넷에서 주문하여 고해상도 영상을 얻을 수 있다. 심지어 제품 카탈로그에 없는 항 단백질 항체는 만들어서 주기도 한다. 단백질뿐 아니라 RNA 발현도 크게 다르지 않다. 세포의 형태를 그대로 유지시키면서, 핵산에 형광이나 화학 표지자를 부합시키는 In Situ Hybridization 기술과 현미경을 이용하면 RNA의 발현을 눈으로 확인이 가능하다.^[2]

그러나 이 신기술에는 기존 기술들과는 다른 차별점이 있다. 첫째, 현미경이 필요치 않다. 대신 차세대 염기 서열 분석(NGS) 장비가 이를 대신한다. 둘째, 표적에 특이적으로 결합하는 Probe가 필요치 않다. 보고자 하는 유전자 타겟의 종류와는 관계없이 동일한 시약으로 모든 타겟을 검출할 수 있다. 셋째, 광학적 특성에 제한을 받지 않는다. 일반적인 형광 표지자를 이용하는 이상 형광 파장 분포에 따른 표지자 수에 제한을 받게 된다. 일반적으로는 2개, 많아 봐야 4개를 쓴다. 여러 타겟을 한 번에 보기 위해서는 기존 기술로는 여러 개의 영상을 하나로 합쳐서 구현하는 수밖에 없는데 이 기술은 형광 표지자를 현미경으로 관찰하는 과정이 없기에 표적 수 제한과는 상관이 없다. 또한 회절 한계(Diffraction Limit)와 같은 광학 현미경이 가진 약점이 없다. 빛의 특성상 파장의 길이보다 작은 물체는 식별이 불가능하다. 분자 단위의 크기를 가진 물체를 식별하기 위해서는 광학 기술 만으로는 충분치 않을 수 있다. 형광을 사용하는 경우 타겟이 너무 한곳에 모여 있으면 다른 약한 신호들은 묻혀 버릴 수도 있으며, 배경 형광(Background Fluresence)과 같은 노이즈나 표적의 두께 등도 큰 문제가 될 수 있다. 이를 해결하기 위해 TIRF(Total Internal Referection Fluoresence)^[3], HILO(Highly Inclined and Laminated Optical Sheet)^[4], SDC(Spinning Disk Confocal Microscopy)^[5] 등 다양한 기술이 시도되고 있으나 이러한 기술 역시 빛을 사용하므로 완전한 해결책은 될 수 없으며 제한된 목적의 검사를 위해 고가의 장비를 구매해야 하는 문제도 따른다. 기존 현미경으로 작은 표적을 확대하기 위해서는 이 신기술은 물체의 존재를 확인하는 역할을 형광 대신 분자가 대신하고 있다.

초록색이나 빨간색 형광 대신에 GCAT로 구성된 염기서열이 대신한다. 빛을 쓰지 않기때, 빛을 통해 물질의 존재를 확인할 때 생기는 문제점이 발생하지 않는다.

[그림 1]에서 나온 것이 이 논문의 표지 사진이자 얻을 수 있는 영상 결과물이다. 보는 것과 같이 형광 현미경에서 볼 수 있는 선명한 영상은 기대하기는 어렵다. 그러나 위에 기술한 장점만으로도 향후 이 기술의 발전을 기대해 볼만한 충분한 가치는 있다고 생각한다. 이 기술의 요점은 다음과 같다. 첫째, 고정시킨 세포를 In-situ Amplification과 Molecular Identifier를 이용해 RNA 정보를 세포 형태를 유지시킨 채 핵산을 증폭시킨다. 증폭된 핵산 분자가 단순 확산(Simple Diffusion) 과정을 통해 주변으로 퍼져 나가고, 두 개의 분자가 서로 만나면 Overlapping Oligo라는



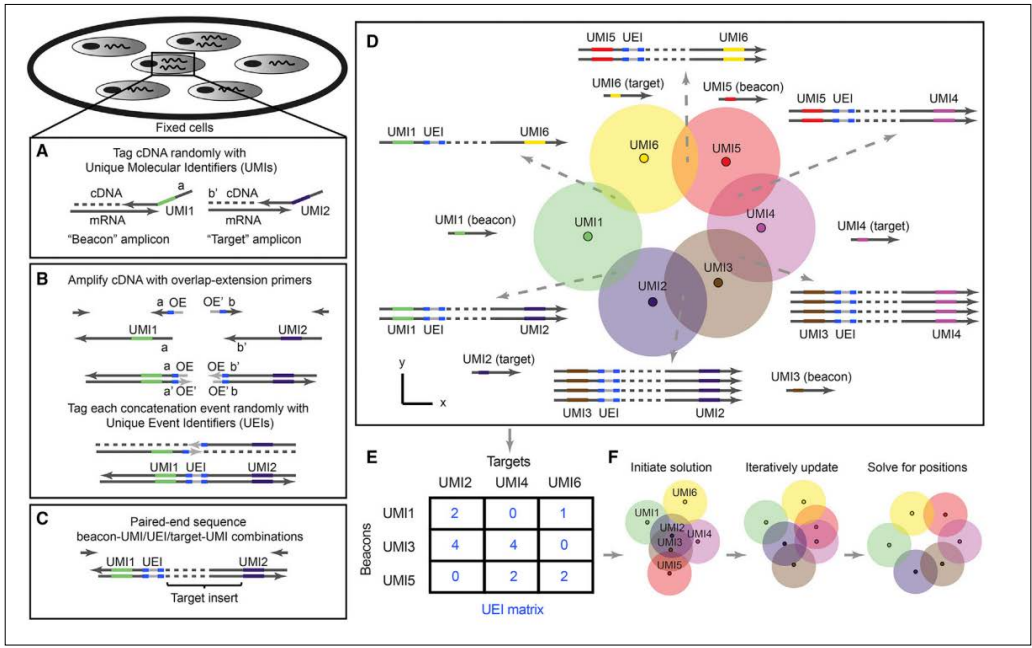
[그림 1] DNA Microscopy 3D 영상과 기본 검사 원리 모식도

인공적 서열로 인해 하나의 서열로 합쳐 지게 된다.

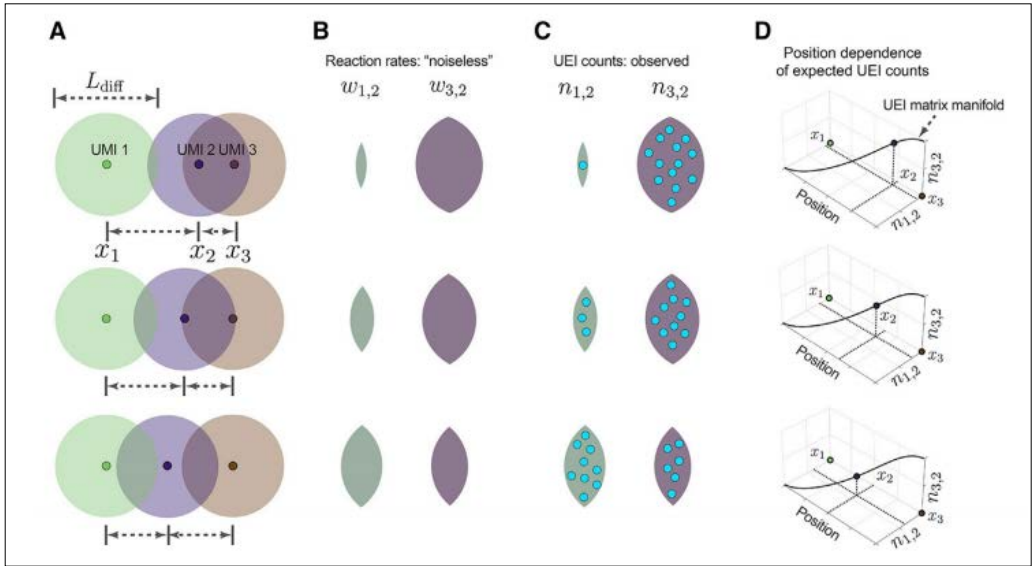
둘째, 증폭된 서열을 NGS로 읽어서 서열의 수와 합쳐진 염기 서열이 포함된 비율을 이용해 서열 간의 3차원적 거리를 추론한다.

셋째, 거리 정보들을 기반으로 3차원 영상으로 추정하여 구현한다.

여기서 Molecular Identifier는 Cell Free DNA 검사 등 NGS 검사 영역에서는 변이 검출 오류를 줄이는 목적으로 사용되는 것으로 최근에 많은 연구에서 사용되고 있는 Unique Molecular Identifier(UMI)와 사실상 동일하다. 이 기술을 이용하면 핵산 분자 하나하나를 표지 할 수 있다. 쉽게 말하면 DNA나 RNA마다 주민등록증을 발급하는 것과 같다. UMI가 동일한 서열은 동일한 핵산에서 기원된 것이라고 볼 수 있다. 그리고 Overlapping Oligo는 OE-PCR이라는 기술에서 사용되는 두 개의 염기 서열을 붙이기 위해 사용되는 Oligo이며, 말단부끼리 결합할 수 있는 상보성을 띄는 염기 서열을 가진다. Overlapping Oligo는 Unique Event Identifier(UEI)라고 명명된 또 다른 표지자를 가지고 있다. 만약 UEI를 가진 염기 서열 정보의 양 말단이 서로 다른 UMI를 가지고 있다면,



[그림 2] DNA Microscopy의 작동 방식



[그림 3] 확산에 따른 UEI 수와 핵산 분자 수 간의 관계

결론을 내리면, DNA Microscopy라는 기술을 통해 기존의 광학 한계를 뛰어넘는 분자 현미경을 저자들은 구현할 수 있었고 세포 단위 유전자 발현을 확인할 수 있는 수단을 만들어 냈다. 사용한 장비도 임상에서 도입해 볼 만한 수준의 장비(NextSeq 550)를 사용한 결과 이기에 더욱 의미가 있을 것 같다. 앞으로는 암을 진단하기 위해 암세포를 현미경으로 관찰하는 것이 아니라 NGS로 만들어 낸 영상을 모니터로 관찰해서 진단하는 세상이 올지도 모르겠다.

이들은 서로 다른 핵산 분자가 붙어서 만들어 진 것이다. [그림 2] 고정된 세포의 3차원 구조 상에 존재하는 분자 간 거리가 가까워야 서로 만나서 연결될 가능성이 많아질 것이고, NGS에서도 더 많은 Read를 생산하게 된다. [그림 2], [그림 3] 반대로 한 Read 내에 두 개의 UMI를 가진 것들 것 적게 생산되었다면, 이에 UMI에 태깅된 서열은 물리적 거리가 서로 먼 것으로 추정할 수 있다. 거리 계산은 영상 정보는 전혀 없는 상태에서 진행된다. NGS데이터를 얻기 위해서는 In-situ Amplification을 썼다 하더라도 결국에는 무언가를 갖고 부셔서 튜브에 넣고 각종 시약을 섞은 후 기계에 넣어야 한다. 즉, 원래 세포가 가지고 있던 3차원적 구조는 사라진 상태로 NGS 장비에서 디지털 신호로 변경되게 되는데 이를 가지고 다시 3차원 형태로 재현하는 것은 컴퓨터와 복잡한 수리 통계가 담당한다. UMI와 UEI의 서열과 그 수를 확률론적으로, 가능한 경우의 수를 계산하여 사라진 3차원 정보를 가상의 이미지로 재현해 내고 개별 분자 간의 추정된 거리 정보만을 이용해 3차원 형태로 구현하는 것이다. 이 과정을 비유하자면 사과를 믹서기에 갈아서 마신 후 그 맛을 기반으로 사과와 형태를 예측해 내는 것과 같다. 이 마술 같은 과정에 대해 자세히 알고 싶거나 혹은 단순히 두통을 느껴 보고 싶은 독자가 있으시다면 이 논문^[1]의 Method 부분 20~24페이지를 읽어 보시기 바란다.

[참고문헌]

[1] Weinstein JA, Regev A, Zhang F. DNA Microscopy: Optics-free Spatio-genetic Imaging by a Stand-Alone Chemical Reaction. Cell. 2019;178(1):229-241.e16.
[2] Gall JG, Pardue ML. Formation and detection of RNA-DNA hybrid molecules in cytological preparations. Proc Natl Acad Sci U S A. 1969;63(2):378-383.
[3] Axelrod, D. Cell-substrate contacts illuminated by total internal reflection fluorescence. J. Cell Biol. 89, 141-145 (1981).
[4] Tokunaga M, Imamoto N, Sakata-Sogawa K. Highly inclined thin illumination enables clear single-molecule imaging in cells [published correction appears in Nat Methods. 2008 May;5(5):455]. Nat Methods. 2008;5(2):159-161.
[5] Schueder F, Lara-Gutiérrez J, Beliveau BJ, et al. Multiplexed 3D super-resolution imaging of whole cells using spinning disk confocal microscopy and DNA-PAINT. Nat Commun. 2017;8(1):2090. Published 2017 Dec 12. doi:10.1038/s41467-017-02028-8

항 목	제 목	세부인정사항		고 시
사람유전자 분자유전검사 - 나583 비유전성 유전자 검사	비유전성 유전자 검사 항목별 유전자 종류	[분류항목] 나. 중합효소연쇄반응-확장 (1) 중합효소연쇄반응-교잡반응	[유전자명] (15) ~ (29) <현행과 같음> (30) DEK-NUP214 Fusion Gene (31) KMT2A-MLLT3 Fusion Gene	보건복지부 고시 제2019-111호 (2019년07월01일 시행)
나600 염색체검사	염색체 마이크로어레이검사의 급여기준	나600가(3)(가) 염색체검사-선천성 이상의 염색체검사-염색체 마이크로어레이검사-고해상도는 「생명윤리 및 안전에 관한 법률」을 준수한 가운데 시행하여야 하며, 다음의 조건에 모두 해당되는 경우에 요양급여를 인정함. 또한, 동 검사를 위탁하고자 하는 요양기관은 다음의 가.와 다.를, 수탁기관은 나.를 수탁일 현재 충족하여야 함 - 다 음 - 가. 적용증 1) 정신지체 (Mental retardation/Intellectual disability) 2) 발달장애 (Developmental disorders) 3) 자폐 (Autism) 4) 다발성 선천성 기형 (Multiple Congenital malformations) 나. 시설, 인력, 장비 기준 1) 시설 아래의 가)~다)를 모두 충족하는 요양기관 - 아 래 - 가) 「생명윤리 및 안전에 관한 법률」제49조에 따라 신고된 유전자검사기관 나) 「생명윤리 및 안전에 관한 법률」시행규칙, 제48조에 따른 “유전자검사정확도 평가”를 3회 이상 받은 기관 다) 나)의 “유전자검사정확도 평가”에서 요양급여 실시일 현재 (1)~(3)의 조건을 모두 충족한 기관 (1) 검사실 운영 A등급 (2) 현장실사 평가에서 평가범주 1과 3의 결과가 A등급 (3) 외부정도관리 평가에서 평가범주 1과 3의 점수가 각각 평균 90점 이상 ※ 다만, 검사 실적 없음 등을 이유로 평가가 유보 또는 제외된 경우 및 최초 시행하는 기관의 경우, (2)의 평가범주 3, (3)의 평가범주 1,3의 결과가 있는 부분에 한하여 충족하면 됨 2) 인력 전문의 자격 취득 후 5년 이상의 경험이 있는 진단검사의학과 또는 병리과 전문의가 1인 이상 상근하고, 임상병리사 1인 이상이 상근해야 함 3) 장비 검사 장비 및 Biochip(DNA Chip)의 해상도는 400kb 이상으로 함 다. 수가 산정 방법 1) 인정횟수 : 진단 시 1회 인정 2) 나600가(1)(나) 염색체검사-선천성 이상의 염색체검사-핵형검사[배양검사 포함]-고해상도와 중복 산정할 수 없음 라. 기타 동 검사를 실시하고자 하는 요양기관은 위의 “나. 1)”에 해당하는 평가결과(인증서)를 건강보험심사평가원에 제출하여야 함 1) 제출시기 : 매년 6월과 12월, 1일에서 14일까지 제출 2) 적용기간 : 제출한 다음달부터 12개월간 적용 (고시 제2019-166호, '19.8.1. 시행)		보건복지부 고시 제2019-166호 (2019년 8월 1일 시행)
누591 핵산증폭		나. 정성그룹 2	(05) Clostridium difficile 독소 유전자 [실시간중합효소연쇄반응법] (06) Clostridium difficile 독소 유전자 [루프매개등온증폭법]	보건복지부 고시 제2019-176호 (2019년9월01일 시행)
누591 핵산증폭		나.주. 정성그룹2-통합자동진단키트 이용	(01) Clostridium difficile 독소 유전자 [실시간중합효소연쇄반응법] (02) Clostridium difficile 독소 유전자 [루프매개등온증폭법]	보건복지부 고시 제2019-176호 (2019년9월01일 시행)
누658 핵산증폭		다. 정성그룹3	(04) 장바이러스 [실시간역전사중합효소연쇄반응법]	보건복지부 고시 제2019-176호 (2019년9월01일 시행)
누658 핵산증폭		다.주. 정성그룹3-통합자동진단키트 이용	(01) 장바이러스 [실시간역전사중합효소연쇄반응법]	보건복지부 고시 제2019-176호 (2019년9월01일 시행)
누658 핵산증폭	지카바이러스 검사의 급여기준	누658다 핵산증폭-정성그룹3-지카바이러스 검사[실시간역전사중합효소연쇄반응법]는 질병관리본부고시 「감염병의 진단기준」에 따라 지카바이러스 감염증이 의심되는 다음중 하나에 해당하는 경우 요양급여를 인정하며, 동 기준 이외에는 비급여로 함. - 다 음 - 1. 역학적 연관성(증상 시작 전 2주 이내)이 있고 반점구진성 발진과 함께 다음 증상 중 2개 이상 동반된 경우 - 발열, 비화농성결막염/결막충혈, 관절통, 근육통, 관절 부종 등 2. 역학적 연관성이 있는 임신부 3. 산전 진찰을 통해 태아의 소두증, 두개 내 석회화 병변, 기타 선천성 장애(선천성 난청, 선천성 백내장, 정신지체 등)이 의심되는 경우 ※ 역학적 연관성 ① 지카바이러스 감염증 발생국가 여행력 ② 지카바이러스 감염자와 성접촉 ③ 지카바이러스 감염증 발생지역에 최근 6개월 이내 방문 이력이 있는 사람과 성접촉 ④ 지카바이러스 감염증 발생국가에서 수혈력이 있는 경우		보건복지부 고시 제2019-234호 (2019년11월01일 시행)

2019 대한진단유전학회 추계심포지엄 성료



지난 10월 10일 백범김구기념관 컨벤션홀에서 2019 대한진단유전학회 추계심포지엄이 성료됐다. 올해로 3회를 맞이한 대한진단유전학회 추계심포지엄은 유전자 검사에 관한 윤리적, 법적, 사회적 문제에 대한 진지한 검토와 대안 모색을 위한 토론회를 목적으로 하는 학술행사다. 이번 추계 심포지엄은 총 13개의 강연과 패널 토론으로 진행됐으며, 현장에는 약 300여 명이 참석했다.

Accurate Monitoring for CMV viral load

cobas CMV Testing¹⁾

FDA 승인된 CMV 정량 검사법²⁾

- Solid Organ Transplant Patient (SOT)
- Hematopoietic Stem Cell Transplant Patient (HSCT)

WHO 표준화된 검사법

- 1st Human CMV WHO International Standard³⁾

pp65 Antigenemia 보다 민감한 검사법⁴⁾

- 2018 International Consensus Guidelines in SOT (Ref.)⁵⁾

약제내성 검증 마친 검사법

- Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir, Foscarnet 약제내성 검체 검출한계·직선범위 검증완료³⁾



Reference :
1) 0817-603 cobasCMV
2) FDA PMA P150041
3) cobasCMV Package Insert
4) Beckmann et al. J Med Virol 2011; 83:2143-50.
5) International Consensus Guidelines in SOT 2018