Korean Society for Genetic Diagnostics

KSGD News Forum

Vol.11
September 2020

ksgd.org | 발행인 전창호 | 간행이사 고대현 | 간행위원 박혜원 김영은 서수현 | 편집 Hicomp Int.

Focus on
Tumor-immune microenvironment-regulating lncRNAs

Technology Trend
cobas Liat Influenza A/B & RSV assay [Real time RT-PCR 기반 현장검사에 사용 가능한 정성검사]

Technology Trend 사용자 경험

Notable Research
Genome-wide cell-free DNA mutational integration enables ultra-sensitive cancer monitoring

최신 보험정보

학회뉴스

연간 후원사 안내

대한진단유전학회
Korean Society for Genetic Diagnostics

Tumor-immune microenvironment-regulating lncRNAs

남진우

한양대학교 자연과학대학 생명과학과

long non-coding RNA(lncRNA)는 길이가 200 nucleotides(nt) 이상인 ncRNA로, 단세포 진핵생물부터 식물과 다세포 동물 그리고 인간의 유전체 존재하며, 다양한 조직과 세포에서 발현이 관측되고 있다. Metazoa 이상의 세포에서 대부분의 lncRNA는 mRNA 처럼 RNA polymerase II에 의해서 전사되며, 5' capping과 3'-polyadenylation, splicing과 같은 RNA 프로세싱 과정을 거치게 된다 [1] (그림 1). 과반 이상의 lncRNA는 핵 속에 더 많이 머물게 되며, 나머지는 세포질로 이동하게 된다. 일부는 핵과 세포질을 결합단백질에 따라 순환하게 된다. 이러한 lncRNA는 핵 속에서 크로마틴구조의 조절, 전사 조절, RNA 안정화 조절을 주로 담당하며, 세포질에서는 RNA 안정화 조절, 번역조절, miRNA decoy와 같은 역할을 주로 담당하는 것으로 알려져 있다 [2].

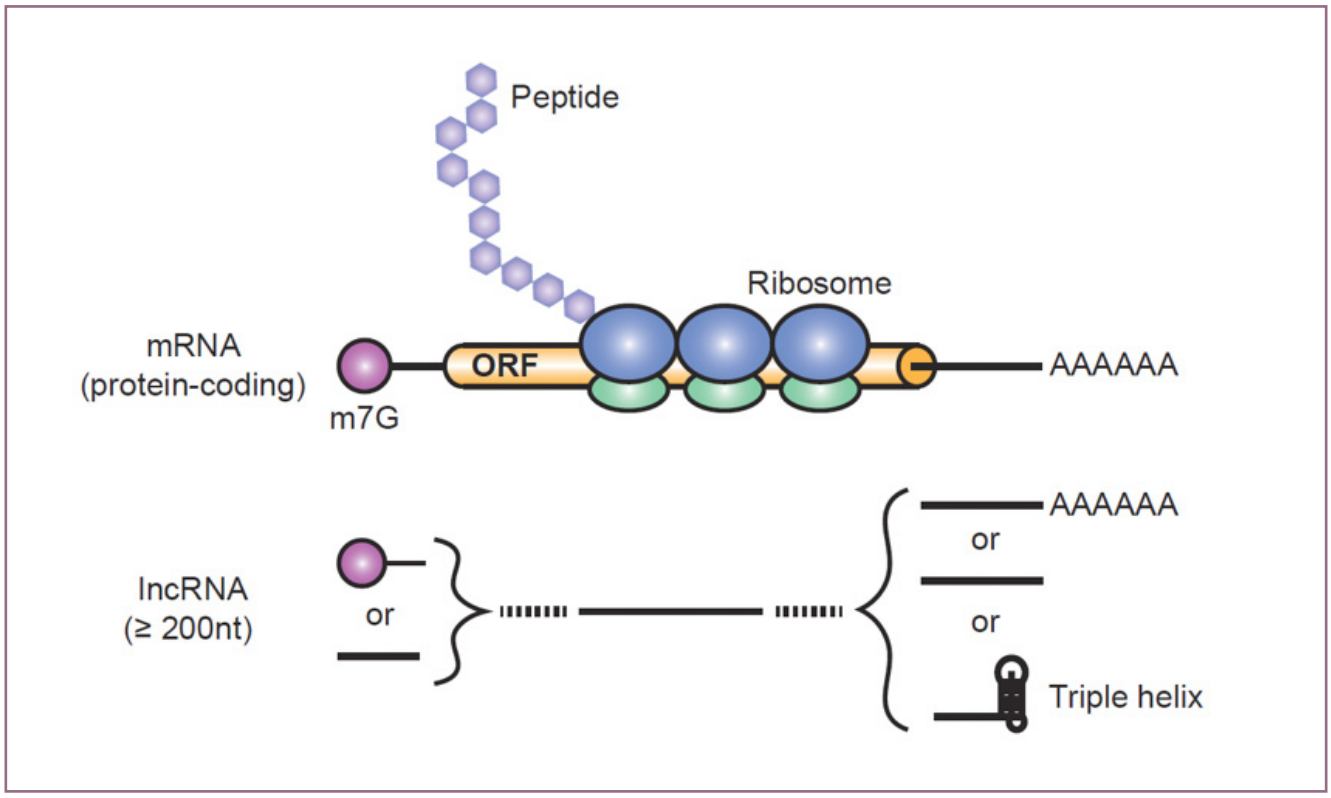


그림 1. lncRNA 구조

현재까지 인간 유전체에서는 약 25,000의 lncRNA 유전자가 발견되었으며, 이는 이미 단백질 유전자 개수를 넘어서는 숫자이다. 가장 많이 사용되는 GENCODE 최신 버전에 lncRNA 유전자는 약 25,000개가 포함되어 있으며 [3], 가장 정확한 것으로 알려진 BIGTranscriptome에는 약 16,000개의 lncRNA 유전자가 동정 되어 있다 [4]. 또한, 암조직에서 생산된 전사체 데이터로부터 새롭게 발견되는 lncRNA가 계속해서 보고되고 있다. 특히 TCGA, ICGC, GTEx와 같은 대규모 Consortium에서 생산된 전사체 데이터로부터 lncRNA 유전자가 대규모 확보되고 있다 [5]. 하지만, lncRNA 유전자가 단백질 유전자나 전사조절인자보다도 훨씬 세포/조건 특이적인 발현을 보이고 있으며, 만약 소규모 세포타입에서 발현되는 lncRNA 유전자의 경우, 조직 수준의 연구에서는 대부분 탐지되지 못하는 문제점을 안고 있다. 이러한 이유로 세포 타입 별 lncRNA 지도 작성과 탐색을 수행해야 하며, 이를 위해 세포 타입 별로 약 106개 이상의 세포를 유세포 분석을 통해 확보해야 할 것이다 (그림 2). 예를 들어 말초혈액 단핵구 중에 약 0.1% 수준으로 존재하는 T regulatory cell를 106개 확보하려면 수없이 많은 단핵구의 유세포 분석을 필요하게 된다. 이러한 이유로 소규모 세포 타입에서 특이 발현되는 미발굴 lncRNA 유전자가 상당수 존재하고 있는 것으로 알려져 있다.

최근까지 암세포주와 암조직에서 특이 발현하는 lncRNA의 암특이 마커의 보고가 수없이 많이 되어 왔으며, 수 백개의 lncRNA가 암발생 및 악화를 조절하는 것으로 보고되고 있다 [6]. 일부 연구를 제외한 대부분의 연구는 단순히 lncRNA 발현을 조절

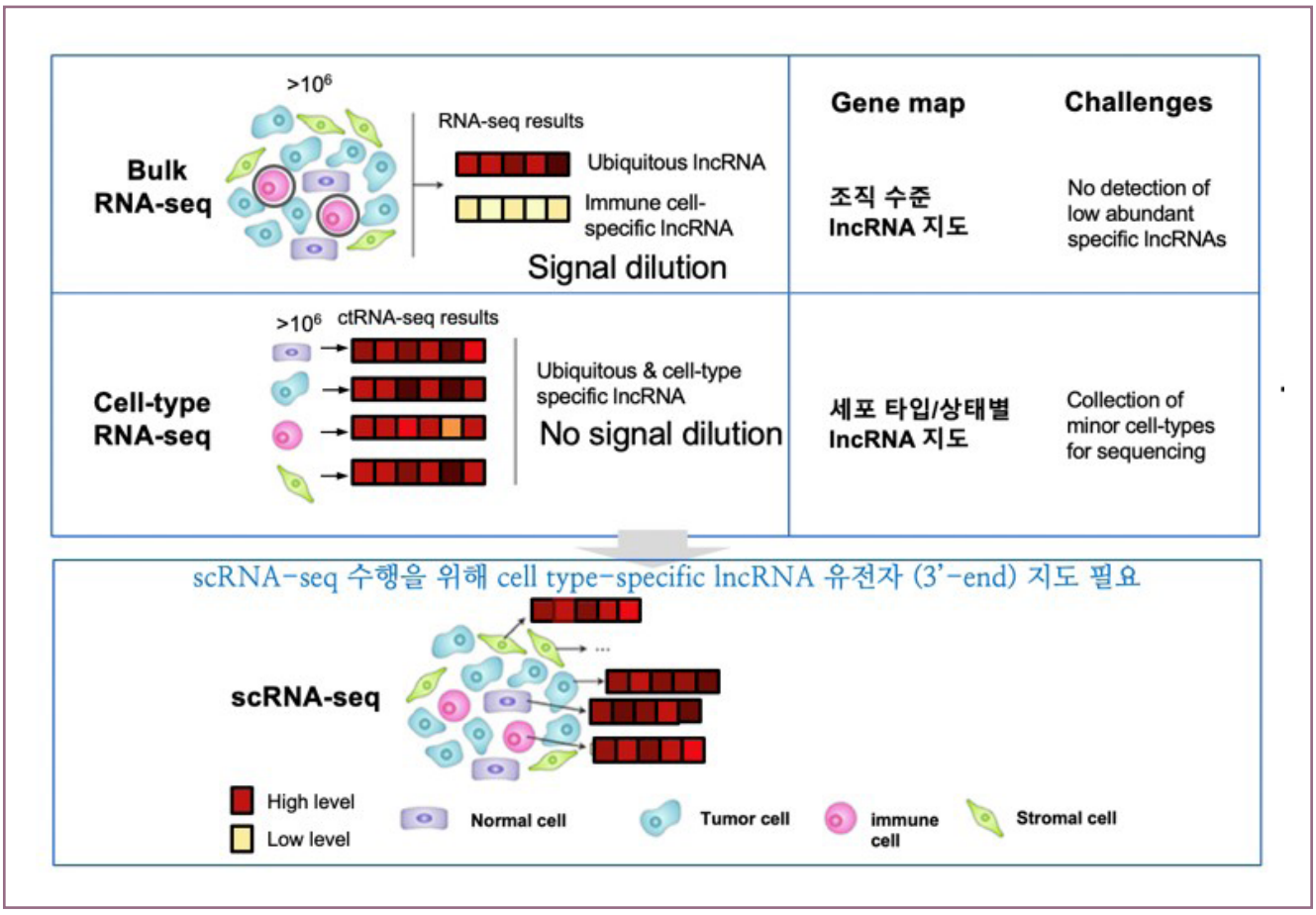


그림 2. 조직수준(Bulk) RNA-seq, 세포타입(Cell-type)별 RNA-seq, 단일세포 RNA-seq(scRNA-seq) 에서 lncRNA 동정과 발현 조사

하고, 암악성화 어세이를 통해 기능을 확인하거나, lncRNA 유전자의 체성 돌연변이와 암 발생과의 관계 분석, lncRNA의 발현 패턴과 유사한 단백질 유전자의 기능 분석 등으로 lncRNA 암 관련성을 조사하는 수준에 머물고 있다. 또한, 암 조직 특이적으로 발현하는 것으로 보고되었던 lncRNA중 상당수가 암세포가 아닌 암조직에 침윤되어 있던 면역세포나 기저세포에 발현되고 있는 것이 확인되어, 암면역환경에서 lncRNA의 역할에 대한 면밀한 조사가 필요한 상황이다 [7]. 예를 들어, Oncogenic lncRNA로 알려졌던 MIAT, PVT1이 Cytokine Pathway와 높은 발현 상관관계를 보이고 Cytotoxic T cell에서 발현이 됨이 확인되었다.

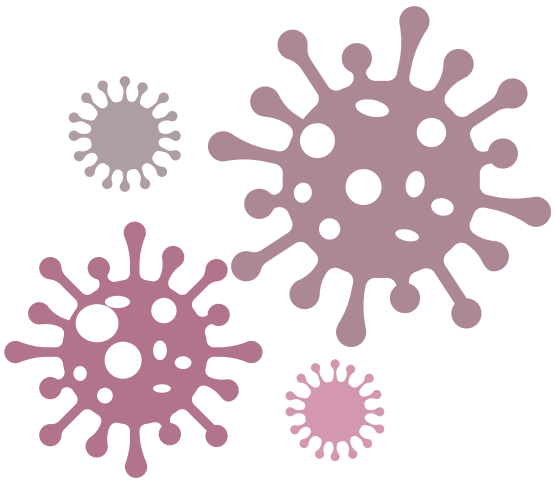
암면역 미세환경(Tumor-immune microenvironment)은 암세포의 다양한 클론과 침윤되거나 주변에 존재하는 선천, 적응 면역세포, 그리고 기저세포들로 구성되며, 암의 성장, 진화, 이동, 전이 등이 주변 세포들과의 상호작용을 통해 조절되고 있음이 알려져 있다. 특히 암세포를 인지하는 면역세포의 면역 관문(Immune Checkpoint) 조절 기능은 항암면역치료제 개발의 전기를 가져올 만큼 큰 연구성과를 거두고 있다. 다양한 암세포와 면역세포 기저세포들에서 일어나는 분자적 수준의 변화와 조절을 이해하기 위해서 세포 특이적 발현을 하는 다양한 RNA의 연구가 필수적이다. 특히, 세포 특이적 발현이 강한 lncRNA를 통한 세포 상호작용과 상태

변화 조절 연구는 기존에 존재하지 않던 새로운 연구의 방향과 인사이트를 제공할 것으로 기대된다. 특히, PanCancer 연구를 통해 면역세포 타입별 분포와 lncRNA의 발현의 상관관계를 분석하여 241개의 면역관련 lncRNA를 동정하였으며, 면역세포 관련 lncRNA 개수를 암 종별로 분석한 결과 유방암, 폐암, 간암, 자궁경부암등의 암 종 에서 많은 면역 관련 lncRNA가 동정되었다 [7]. 또한, In-situ hybridization을 통해 암-면역 미세환경에서 면역세포 특이적으로 발현되는 HOTAIR, lncRNA-EPS, Lnc-EGFR등 일부 lncRNA가 보고되고 있다.

최근 수십 개의 면역 세포 타입별 RNA-seq데이터에서 특이적으로 발현하는 lncRNA, miRNA, mRNA, circRNA 발현 조사 연구가 수행되었지만, GENCODE에 알려진 lncRNA에 한정되었고, 새로운 lncRNA 동정 연구는 수행되지 못했다. 한편, 유럽과 미국 연구기관들을 중심으로 BLUEPRINT(https://www.blueprint-epigenome.eu/) 프로젝트와 Immgen데이터베이스(http://www.immgen.org/)를 통해 인간과 생쥐의 말초혈액 단핵구, 림프구, 골수에서 세포타입별로 RNA-seq을 수행하여 데이터를 공개하였다. 이러한 세포 타입별 RNA-seq 데이터는 전사체를 재구성하고 lncRNA를 동정하는데 활용할 수 있게 하였다. 더 최근에는 인간의 다양한 암 조직에서 CD4, CD8 T cell을 확보하여 Full-length 전사체 데이터를 생산하고 여기에서 lncRNA 유전자 지도를 새롭게 작성하였으며, 9433개의 새로운 T cell 발현 lncRNA을 발굴하였다[8].

암-면역 미세환경에서 세포 타입별 lncRNA 지도를 확보가 완료되면, 비로소 단일세포전사체 데이터에서 lncRNA을 발현을 직접적으로 확인할 수 있게 된다. 예를들어 골수에서 수행된 Human Cell Atlas 데이터로부터 단일세포 수준의 lncRNA 발현을 확

인하고 세포 타입별 lncRNA 마커를 확인할 수 있게 된다. 또한, 다발성골수종 단일세포 데이터에서도 플라즈마 세포에서 유래된 암세포와 다양한 면역세포에서 mRNA 뿐 아니라 lncRNA 발현과 마커를 확인할 수 있게 된다. 더 나아가 이러한 세포 타입에서 특이 발현하는 lncRNA의 기능 조사를 통해 암 악성화나 면역활성화를 조절하는 lncRNA 연구를 가능하게 할 것이다. 그림 3은 대장암 단일세포 데이터를 이용하여 새롭게 동정된 lncRNA의 발현을 조사하고 특정 암세포(Malignant)와 기저세포(Endothelial, Fibroblast) 그리고 면역세포(Mast cell, pDC, DC, Macrophage, B cell, Treg, CD8 T cell, T cell)에서 특이 발현하는 lncRNA 마커를 보여주고 있다. 단일세포 수준의 lncRNA 분석을 통해 조직수준에서 발현의 변화를 넘어서 세포수준에서의 lncRNA 발현변화 조사 및 진단, 예후 마커 조사, 더 나아가 새로운 치료 표적 발굴에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대하고 있다.



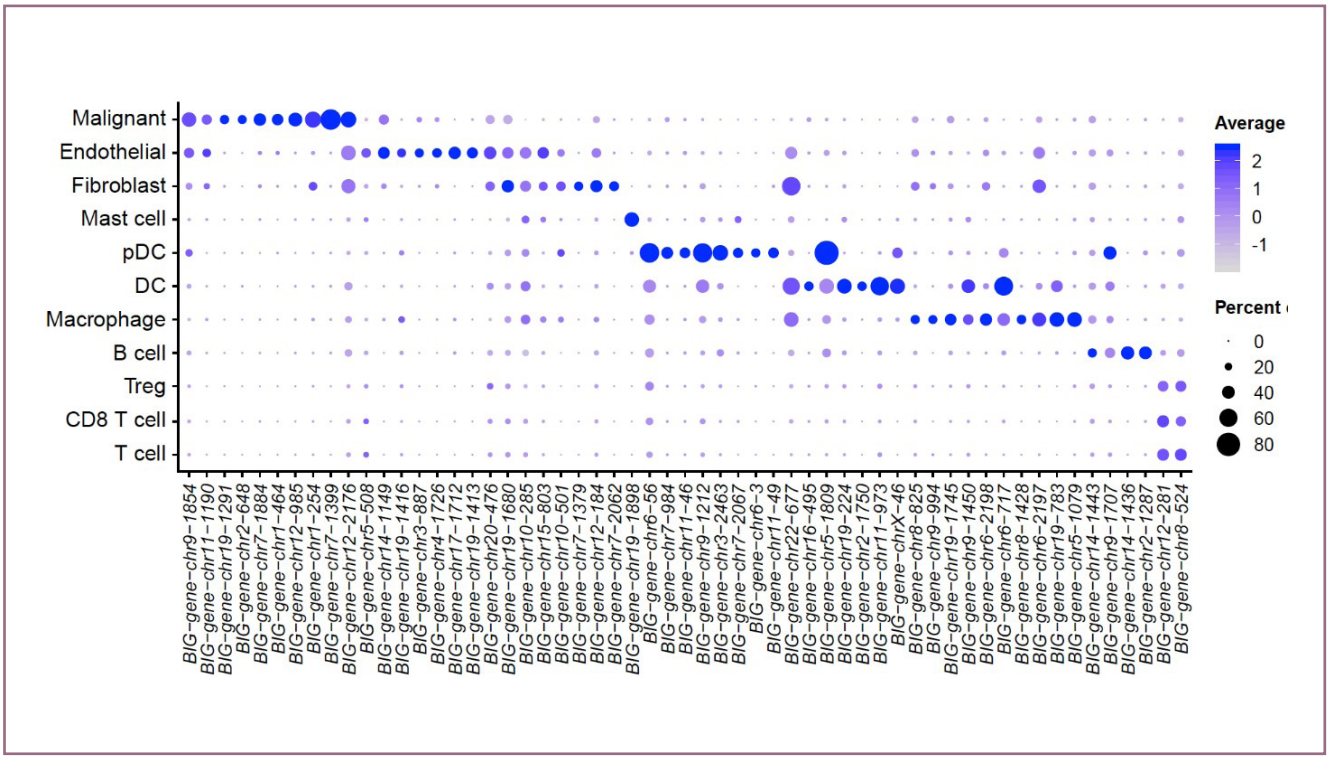
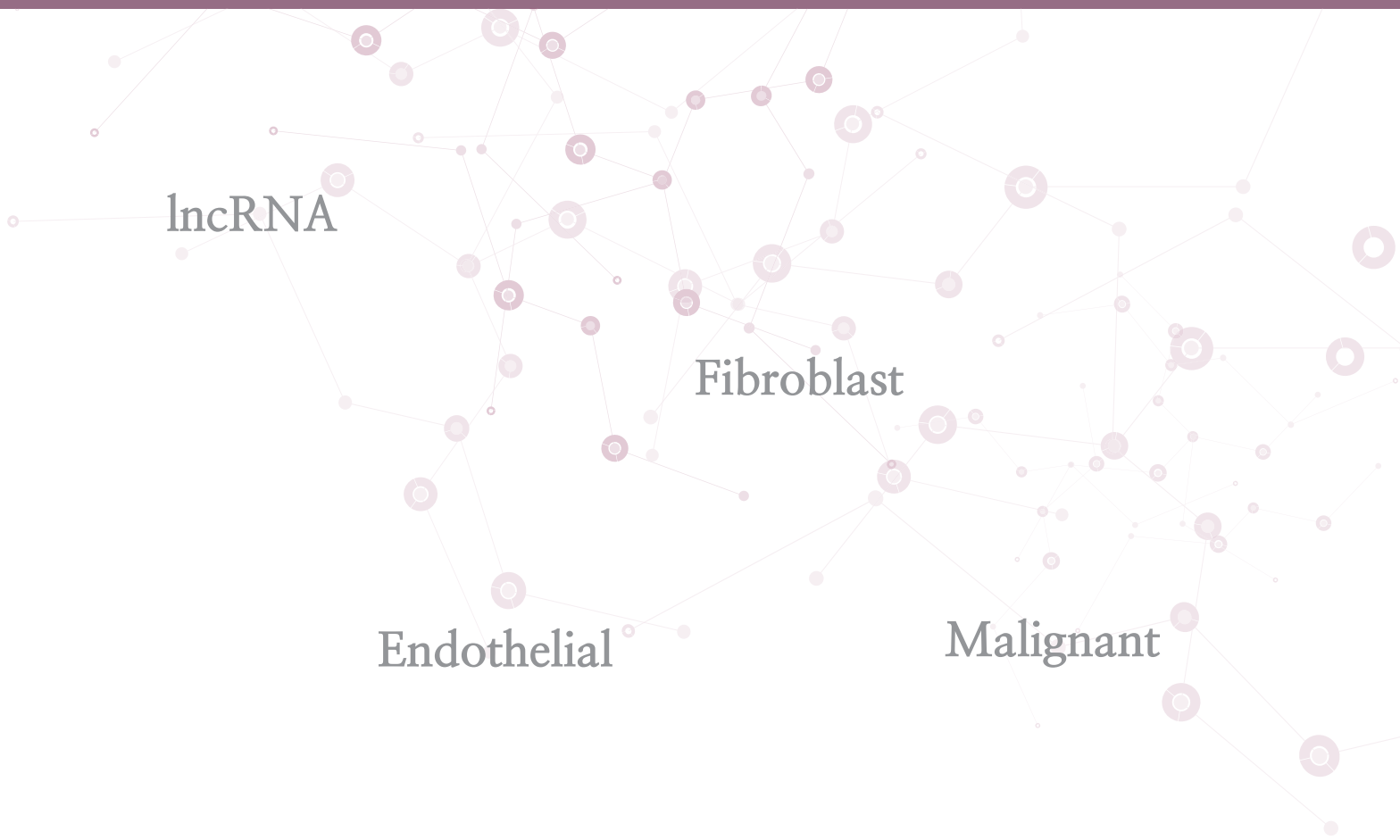


그림 3. 암-면역 미세환경 세포타입별 lncRNA 발현 마커



[References]

[1] Igor Ulitsky and David P. Bartel, lincRNAs: Genomics, Evolution, and Mechanisms. Cell. http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.06.020

[2] Sarah Geisler and Jeff Coller, RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts, Nature Review Molecular Cell Biology, https://doi.org/10.1038/nrm3679

[3] Adam Frankish et al., GENCODE reference annotation for the human and mouse genomes, Nucleic Acids Res., https://doi.org/10.1093/nar/gky955

[4] Bohyun You et al., High-Confidence Coding and Noncoding Transcriptome Maps, Genome Res. https://doi.org/10.1101/gr.214288.116

[5] Shuai Jiang et al., An expanded landscape of human long noncoding RNA. Nucleic Acids Res., https://doi.org/10.1093/nar/gkz621.

[6] Adam M. Schmitt and Howard Y. Chang, Long Noncoding RNAs in Cancer Pathways, Cancer Cell, https://doi.org/10.1016/j.ccell.2016.03.010

[7] Yongsheng Li et al., Pan-cancer characterization of immune-related lncRNAs identifies potential oncogenic biomarkers, Nature Comms., https://doi.org/10.1038/s41467-020-14802-2

[8] Single-cell Long Non-coding RNA Landscape of T Cells in Human Cancer Immunity, bioRxiv, https://doi.org/10.1101/2020.07.22.215855

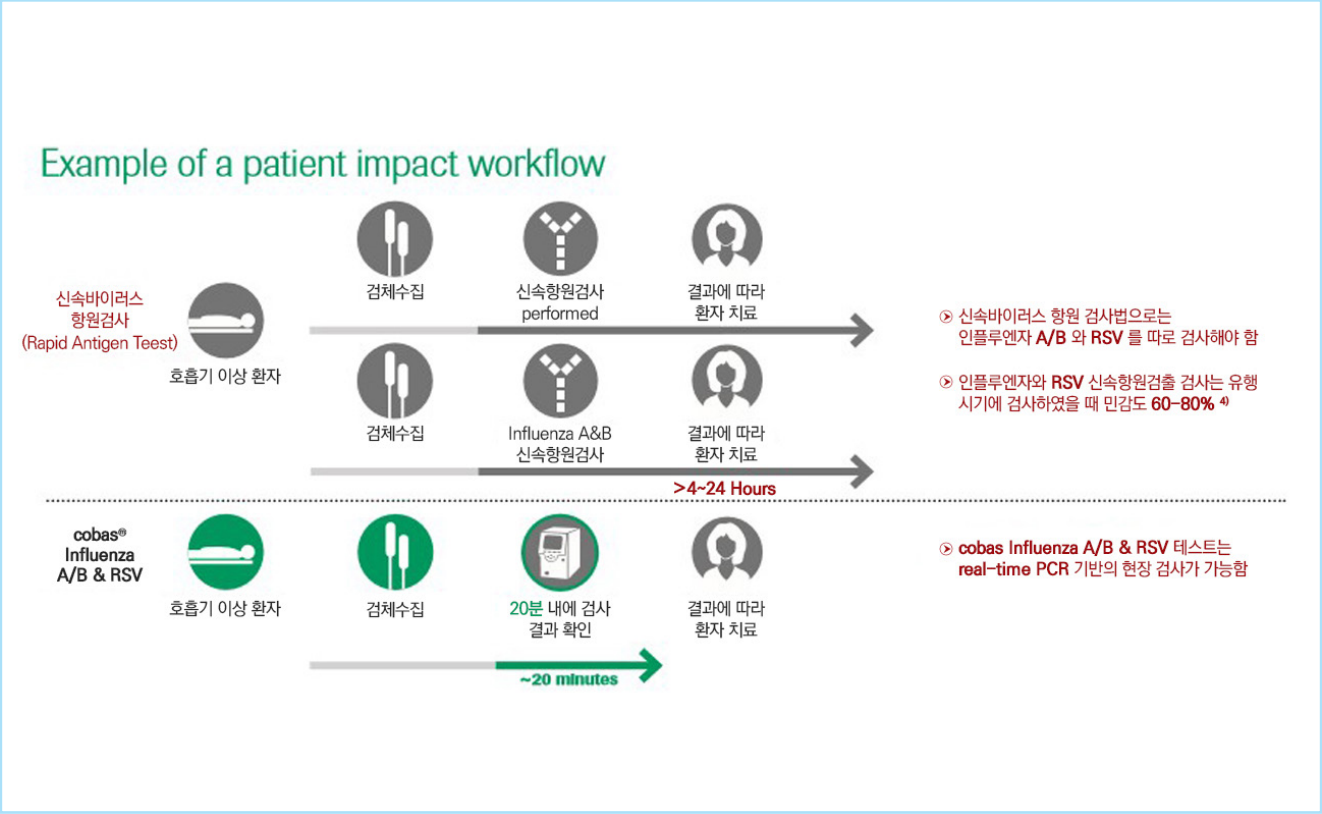
cobas Liat Influenza A/B & RSV assay [Real time RT-PCR 기반 현장검사에 사용 가능한 정성검사]

한국로슈진단

인플루엔자 (Influenza)는 계절성 호흡기 바이러스 감염으로 가벼운 피로에서부터 호흡 부진 및 사망에 이르기까지 다양한 정도의 전신 증상을 보이는 급성 열성 질환입니다. [1)]

인플루엔자바이러스는 항원변이로 인하여 매년 계절 인플루엔자가 유행하며 세계적으로 계절 인플루엔자로 매년 인구의 5~15%가 감염되며 약 10억명 환자가 발생하고, 이 중 3~5백만명이 중증환자 발생, 25~50만명이 사망하고 있습니다. [2)]

주로 65세이상 노인, 만성질환자, 임신부 및 2세미만 영유아에게 중증 및 사망이 발생 [2)]하고 있으며 인플루엔자 감염 시 증상 시작 후 48시간 내에 항바이러스제를 복용 및 투여하였을 때 가장 효과가 높은 것으로 나타나고 있습니다. [3)]



환자 치료의 workflow의 예시

호흡기 세포 융합바이러스 (Respiratory syncytial virus, RSV) 역시 바이러스성 호흡기 질환을 일으키는 바이러스로 급성하기도 감염의 주요 원인이 되며, 소아 급성하기도 감염의 60%, 1세 미만 영유아 급성하기도 감염의 80%의 원인이 됩니다. [5)]

RSV는 성인에게서 가벼운 감기 유사 증상을 유발하지만 만성 심장병이나 폐 질환이 있는 영아, 소아, 노인, 어른에게 증상이 심한 질병을 일으킬 수 있는 일반적인 바이러스입니다.

인플루엔자 및 RSV 감염의 증상은 다른 감염 원인과 광범위하게 겹칩니다. 인플루엔자 및 RSV에 감염된 환자를 통제, 적절한 치료 방법 선택 및 발병 예방을 위해 자동 및 신속한 분석법이 효과적입니다. [6)]

인플루엔자, 호흡기 세포 융합바이러스 (RSV) 및 기타 호흡기 바이러스의 정확한 실험실 진단은 환자 관리, 감염 예방 전략 및 역학적 모니터링을 안내하는 데 도움이 되었습니다. 지난 30년 동안 바이러스 배양, 항원 검출, NAAT(Necleic acid amplification testing)와 POCT(Point of Care testing)에 이르기까지 진단 검사의 진화가 있었습니다. 간단한 항원 면역 검사는 오랫동안 인플루엔자 A 및 B 바이러스 및 호흡기 세포 융합 바이러스 (RSV)에 대한 주요한 제품이었지만 낮은 민감도라는 단점이 있었습니다. 2015년 최초의 POC NAAT는 새로운 검사법의 시대를 열었습니다. [7)]

현장 검사 (Point of care, POC)란 진료 현장에서 직접 사용이 가능하도록 고안된 검사법을 총칭하여

이러한 장비를 이용하여 현재의 많은 검사들이 실시간 검사 및 보고를 하는 현장 검사로 대체될 것으로 예측하고 있습니다. [8)]

한국로슈진단은 다양한 현장 검사를 보유하고 있으며, 인플루엔자와 호흡기 세포 융합바이러스 (RSV) 등을 진단할 수 있는 cobas Liat 시스템을 보유하고 있습니다. cobas Liat 시스템은 real-time PCR 기반의 현장검사가 가능한 장비로 병원에서 환자의 빠른 진단에 도움을 줄 수 있습니다. 샘플 준비에서 핵산 추출 및 real-time PCR에 이르기까지 전과정이 자동화된 매우 간소화된 워크플로우를 가지고 있습니다. [6)]

장비 workflow

cobas Liat Analyzer(체외 수인 18-4722 호)에서 구동 가능한 cobas Liat influenza A/B & RSV 어세이는 호흡기 감염 증상이 있는 환자로부터 수집한 비인두 스왑 검체(nasopharyngeal swab, NPS)에서 인플루엔자 A 바이러스, 인플루엔자 B 바이러스 및 호흡기 세포융합 바이러스(respiratory syncytial virus, RSV) RNA 를 실시간(real-time) 역전사 중합효소연쇄반응(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)으로 정성 검출 및 분별을 위한 정성검사용 체외진단용 의료기기입니다.

검체 수집에서 결과보고에 이르는 검사 소요 시간은 20 분 이내이며 cobas Liat assay tube안에는 필요한 모든 시약이 포함되어 있어 환자 샘플만 넣어 바로 검사가 가능합니다. [6)]

cobas® Influenza A/B & RSV performance[3)]

	Positive Agreement	Negative Agreement	LOD
Influenza A	98.4%	96.5%	2×10^{-3} - 2×10^{-2} $TCID_{50}$/mL
Influenza B	97.9%	99.4%	2×10^{-3} - 4×10^{-3} $TCID_{50}$/mL
RSV	97.8%	98.4%	4×10^{-1} $TCID_{50}$/mL

cobas Liat Influenza A/B & RSV Performance [6)]

[Reference]

1) Derlet, R. et. al. (Updated 2009 December 8). Influenza. eMedicine [On-line information]. Available online at http://emedicine.medscape.com/article/219557-overview. Accessed March 2010.

2) 질병관리본부 2019-2020절기 인플루엔자 관리지침

3) Lehnert R et al. Antiviral Medications in Seasonal and Pandemic Influenza, Dtsch Arztebl Int 2016; 113(47); 799-807

4) 소아청소년 하기도감염의 항생제사용지침 (2017), 질병관리본부

5) Piedimonte G, Perez MK. (2014). Respiratory Syncytial Virus Infection and Bronchiolitis. Pediatrics in Review. 35:519-530.

6) cobas Liat Influenza A/B & RSV package insert

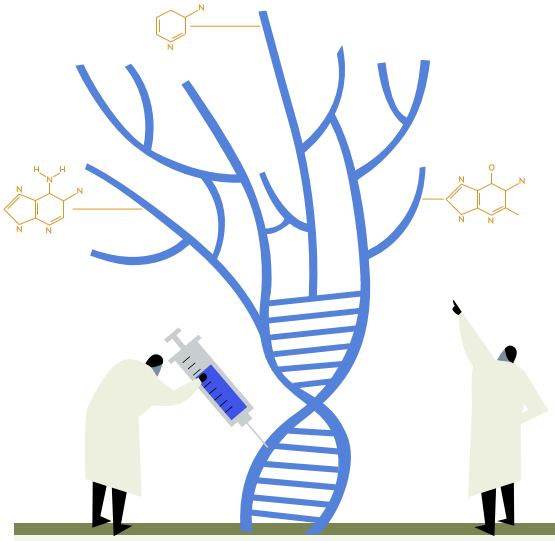
7) J Clin Microbiol. 2018 Jun 25;56(7):e00367-18. doi: 10.1128/JCM.00367-18.

8) 대한내과학회지 감염 질환의 현장 검사 : 현황과 전망Korean J Med > Volume 93(2); 2018 > Article

[허가 사항]

1) cobas Liat Analyzer, 체외 수인 18-4722호

2) cobas Liat Influenza A/B & RSV, 체외 수허 18-306호



cobas Liat Influenza A/B & RSV assay 사용자 경험

이재현
전북대학교병원

1918년 JAMA에 독감과 격리에 대한 사설, ‘QUARANTINE AND ISOLATION IN INFLUENZA’에[1]. 인플루엔자(Influenza)의 격리에 대하여 일리노이(Illinois) 주 보건국과 해군의 상반되는 지침을 비교하며, 개인의 격리와 교차 감염 예방에 대해 논하는 내용이 실렸다. 이후 2003년 중증 급성 호흡기 증후군 바이러스(Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus, SARS-CoV), 2009년 신종 인플루엔자 등 호흡기 바이러스의 유행 때마다 빠르게 검출하여 격리하는 방안의 중요성이 논의가 되었다. 캐나다 토론토 보건국의 1918년 인플루엔자 대유행때와 2003년 SARS 유행 때의 토론토 보건국의 대처를 비교한 보고[2]에서는 주 및 연방 정부의 협조 부재로 인해 접촉자 추적 및 격리, 의심환자의 격리 등이 어려움을 겪었다고 언급하며 과거로부터 얻은 교훈을 바탕으로 인플루엔자 대유행의 가능성이 높아지는 시기에 다가오는 전염성 질환을 통제하는 기초를 마련하자고 제안하고 있다.

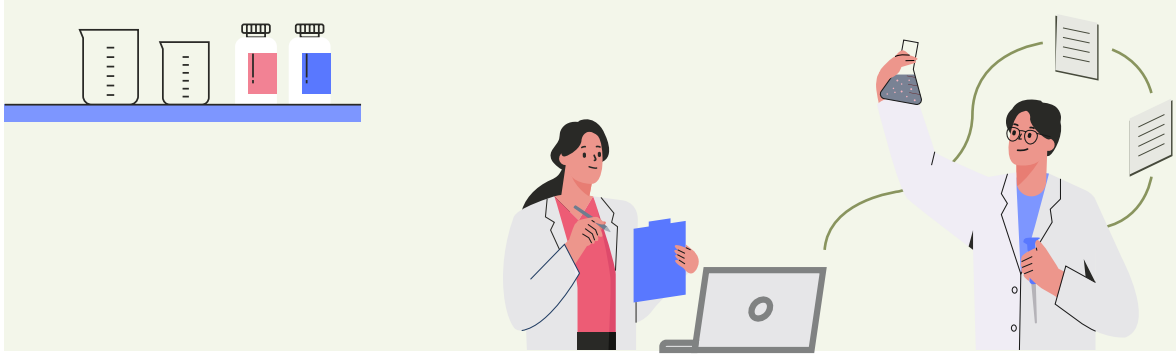
본원은 인플루엔자 등 호흡기바이러스의 빠른 진단에 더해 원내 유입 및 집단발 하고자, 호흡기바이러스 검사와 관련하여 정확도가 높으면서도 빠른 검사에 대해 관심을 기울여왔다. 기존의 호흡기 바이러스 realtime PCR 검사의 시행 횟수를 늘이거나, 신속 PCR의 도입을 적극적으로 검토하기도 하였다. 인플루엔자 A와 B, 그리고 RSV를 동시에 검출하는 분자진단기법의 POC 기기인 cobas Liat Analyzer (Roche Molecular Systems, Pleasanton, CA, U.S.,) [3, 4]의 국내 출시에 따라 본원에서는 cobas Liat을 고려하였고, 그 도입과정에서 고민하였던 실질적인 점을 공유하고자 한다.

1. 신속 검사 개념의 확장[3]

; 진료과 외래에서 신속검사의 도입을 요청받을 때마다 POC 검사(Point-of-care test) 또는 신속검사(rapid test)의 정의에 대해 고민을 하였다. 오랜 동안 항원/항체 검사가 신속 검사의 주를 이루었으나, 일부 호흡기 바이러스의 항원검사는 낮은 민감도[5]로 활용에 어려움이 있었다. 2015년 첫 미국 FDA 승인의 인플루엔자 POC 검사를 비롯하여 많은 호흡기바이러스 신속 PCR 검사기기가 출시되면서 항원/항체 기반 POC 검사로부터 분자진단기반의 검사기기로 개념이 확장되었다[3]. 본원은 상급종합병원으로 환자의 정확한 진단과 빠른 격리 모두 만족시켜야 한다고 생각하여 낮은 민감도와 특이도로 인한 위험을 피하고자 분자진단검사 기반의 신속검사를 고려하였다. 특히 응급실과 중환자실 입실 환자 등에서 호흡기바이러스의 선별은 빠르고 정확해야 하므로 민감도와 더불어 특이도를 중요하게 평가하였다.

2. 검체 용기와 사용성

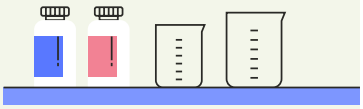
; POC 검사는 검사실 내 검사와 달리 다양한 직종의 검사-비숙련자가 검사를 진행하며, 검체 채취, 육안 판독 시 판독자에 따른 변이가 크다. 본원에서는 기존 Liat 논문들에서 평가되지 않았던 eNAT (Copan Diagnostics, Brescia, Italy)을 주로 사용하고 있어, 추가적으로 간단히 평가를 시행하여 동등성을 확인하였다. 또한 인턴이나 간호사 등의 업무 순환을 고려할 때, 검사 과정이 직관적이며 수행이 편리하고, 결과 관리가 전산으로 가능한 검사가 POC 검사에 적합하다고 사료된다. 전공의와 간호사 등을 교육 후 사용 후기를 청취하고, 모든 장비를 인터페이스를 통해 결과 관리를 전산화하는 등, 검사 관리 시 오류 등을 예방할 수 있는 방안을 마련하였다. 특히 검체 바코드를 반드시 사용하여 전산으로 모든 결과가 관리되도록 하고, 검사자 정보도 모두 입력하도록 시스템을 구축하였다. 이러한 모니터링을 통해 만약 검사 오류(invalid)가 발생할 경우 추가적인 사용자 교육 또는 적절한 조치를 취할 수 있다.



3. 높은 민감도와 특이도

; 모든 검사실 검사는 높은 민감도와 특이도가 요구되며, 이는 당연하다고 생각한다. 그러나 POC 검사에서는 상대적으로 낮은 기준을 적용하는 경우가 있다. 전파력이 있는 감염병은 소수의 환자라도 진단을 못할 경우 집단발병이 가능하여 POC 검사라 하여 민감도와 특이도의 기준을 낮추는 것은 임상적으로 큰 문제를 야기할 수 있다. 앞서 언급한 바처럼[3], 우리나라의 진단검사의학 수준을 고려할 때 신속 검사 또는 POC 검사로 부르는 검사들에게 이제는 더 정밀하고 엄격한 기준을 고려해야할 시점이 아닌가 생각한다. 특히 인플루엔자과 RSV는 전파력이 높은 바이러스임을 고려할 때 높은 민감도와 특이도 기준을 적용함이 타당하다.

2020년 1월 20일, 국내 첫 코로나19 감염증 확진환자의 발생과 코로나19 판데믹 선언 등으로 SARS-CoV-2 바이러스를 포함한 호흡기 바이러스의 빠른 진단과 격리는 시간이 갈수록 중요해지고 있다. 감염병에 있어도 POC 검사, 신속 검사의 가치는 매우 높다. 그러나 POC 검사라고 하여 민감도와 특이도 보다도 검사의 편리성과 신속성을 강조한다면, 집단발병을 야기할 수 있어 매우 위험하다. 최근 국내에서 코로나19 신속 PCR 검사로 여러 진단키트가 긴급사용승인을 받았으며, 그 중 일부는 POC 검사에 준하는 것으로 사료된다. 민감도와 특이도에 대한 평가 데이터가 부족한 상황에서 신속한 결과라는 장점이 앞선 부분이 없는지 점검이 필요하다고 생각한다. Roche LiaT 플랫폼에 SARS-CoV-2와 인플루엔자를 동시에 검출하는 진단시약의 개발이 진행 중이라는 소식을 들었다. 인플루엔자의 계절이 시작되면 증상만으로는 감별이 어려움에도 불구하고, 인플루엔자 검사의 편리성 때문에 코로나19 진단의 고삐를 늦추거나 동시감염(coinfection)에 대한 가능성을 낮게 평가하는 등의 문제가 있을 수 있는데, 인플루엔자 등 호흡기 바이러스와 SARS-CoV-2 바이러스의 동시검출은 긍정적인 개발 방향으로 생각된다. 신속성을 고려하여 낮은 민감도와 특이도를 감수하기보다는 충분히 정확하고 특이도가 높으며 빠른 분자진단기기가 향후 공급이 많이 되어 환자와 의료기관의 의료진들을 충분히 보호하고 도움을 줄 수 있는 시대가 조속히 오기를 기대해 본다.



1. QUARANTINE AND ISOLATION IN INFLUENZA. Journal of the American Medical Association 1918;71:1220-.

2. MacDougall H. Toronto's Health Department in action: influenza in 1918 and SARS in 2003. J Hist Med Allied Sci 2007;62:56-89.

3. Azar MM and Landry ML. Detection of Influenza A and B Viruses and Respiratory Syncytial Virus by Use of Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA)-Waived Point-of-Care Assays: a Paradigm Shift to Molecular Tests. Journal of Clinical Microbiology 2018;56:e00367-18.

4. Young S, Illescas P, Nicasio J, Sickler JJ. Diagnostic accuracy of the real-time PCR cobas(®) Liat(®) Influenza A/B assay and the Alere i Influenza A&B NEAR isothermal nucleic acid amplification assay for the detection of influenza using adult nasopharyngeal specimens. J Clin Virol 2017;94:86-90.

5. Chartrand C, Tremblay N, Renaud C, Papenburg J. Diagnostic Accuracy of Rapid Antigen Detection Tests for Respiratory Syncytial Virus Infection: Systematic Review and Meta-analysis. Journal of Clinical Microbiology 2015;53:3738-49.

Genome-wide cell-free DNA mutational integration enables ultra-sensitive cancer monitoring

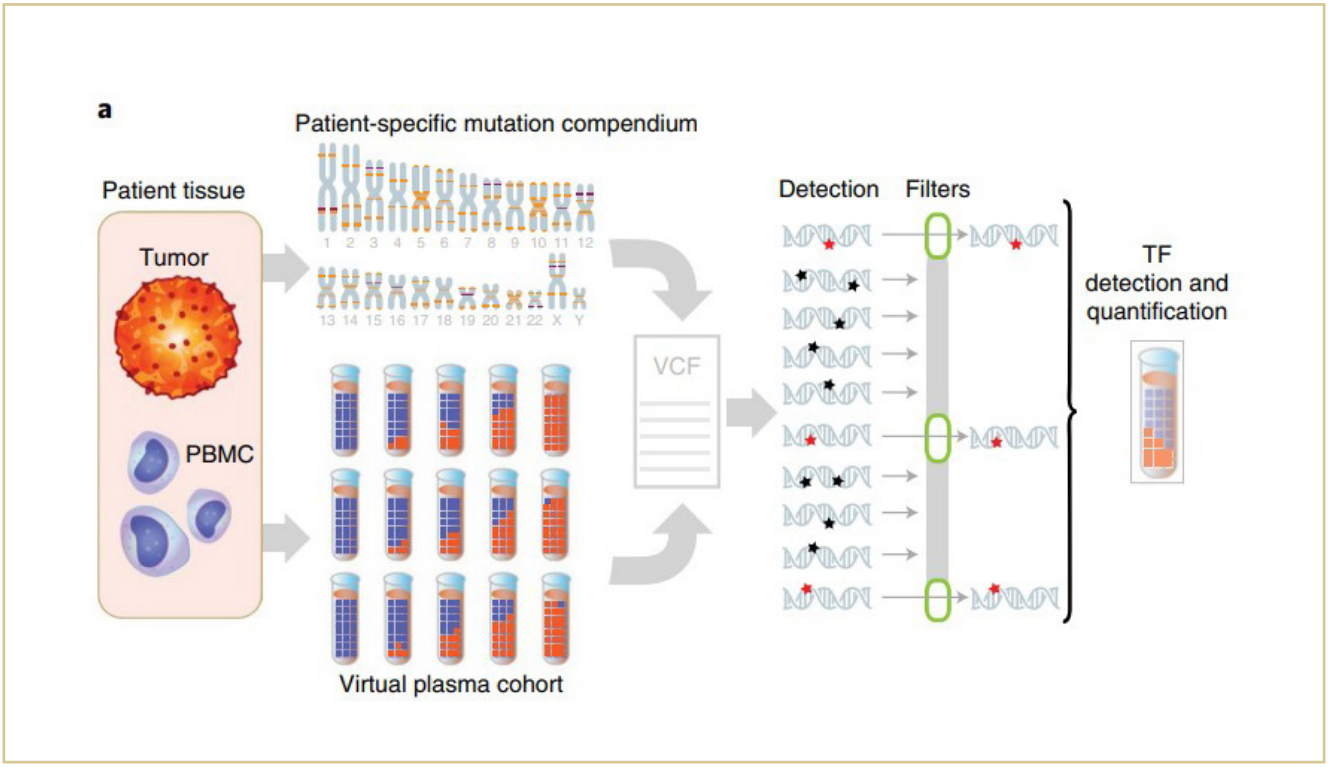
박혜원

씨젠의료재단

비침습성, 편의성, 반복가능성 등의 장점으로 인해 액체생검이 학계의 관심을 모은 지는 이미 오래되었다. 하지만, 액체생검에 핵심적인 cell-free DNA (cfDNA)의 적은 양 특히 더욱 적은 종양세포 cfDNA 분율과 cfDNA 분해(degradation)로 인해 검사 가능한 DNA 조각이 더욱 적어지는 문제 등으로 검사의 실용성이 제한된 상태이다. 액체생검이 더욱 필요한 조기암과 치료후 잔류종양 검출에서 DNA 양과 관련한 문제점이 특히 두드러진다. 일반적으로 40,000 coverage depth에서 10-3 정도의 변이검출률을 얻을 수 있는데, 진행된 병기에서는 10-3의 민감도로 90%가량의 종양을 검출할 수 있다. 그러나 조기암에서는 대부분 cfDNA의 종양분율이 10-3 미만이므로 임상적으로 유용하려면 적어도 민감도가 10-5는 되어야 한다.

저자들은 이러한 검사의 한계를 극복하기 위하여 깊이(sequencing depth)가 아닌 범위(breadth)를 넓히는 소위 orthogonal framework 전략을 사용하였다. 간단히 말하면, WGS 시행 시 depth를 높이는 대신 검출하는 SNV의 가짓수를 수천 개까지 늘려 민감도를 높여 보겠다는 것이다.

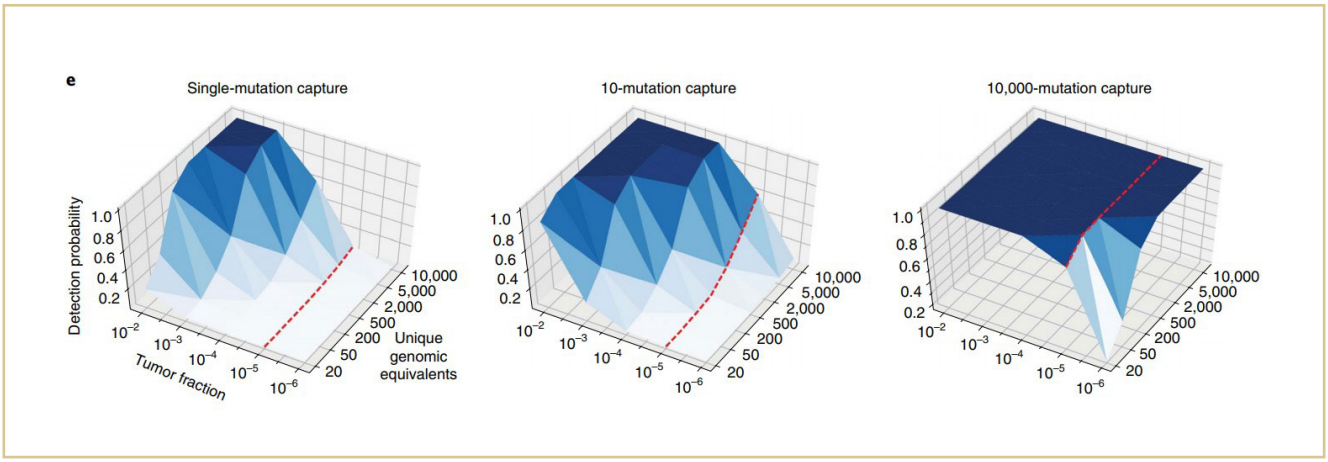
아이디어의 배경은 다음과 같다. WGS에서 SNV를 검출할 때 두 가지 프로세스를 거치는데 각각의 프로세스는 독립적인 검출확률을 가진다. 첫 번째 프로세스는 전형적인 혈장검체에서 변이의 확률을 구하는 것이고, 두 번째 프로세스는 특정 검체에서 변이를 검출하는 것이다. 이 때 검사 특성 상 일정 비율의 염기서열분석 오류는 감안하게 된다.



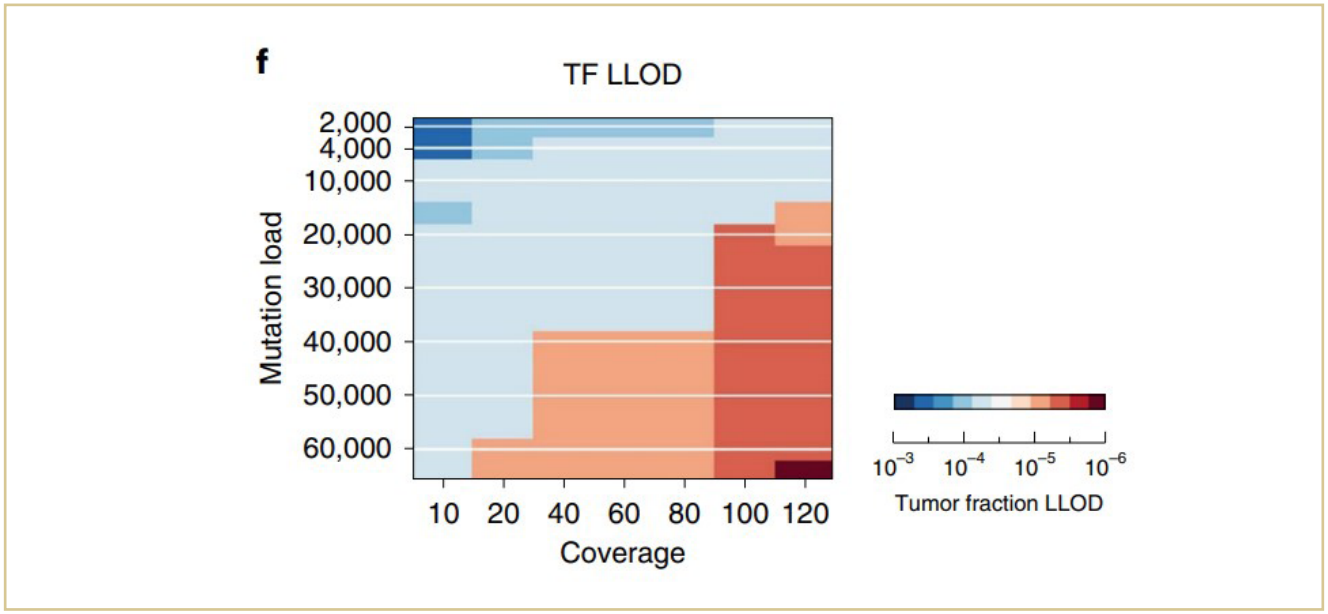
진단검사 분야의 연구자들이 에러율을 낮추려고 노력을 경주하는 곳은 일반적으로 이 두 번째 프로세스인데, 염기서열분석의 기술적인 면에 집중하면 할 수록, 첫 번째 프로세스의 확률론적인 면을 간과하게 되는 경향이 있다. 그런데 만약 검체에 cfDNA 조각이 없다면 sequencing depth를 아무리 늘린다 한들 변이를 검출할 방도가 없지 않은가? 실제 임상검사실에서 이러한 문제점은 더 두드러지는데, 기술의 내재적인 특성 상 변이가 한 번 관찰되었다고(single observation) 실제 변이를 검출했다고 확신할 수 없기 때문이다.

그래서 저자들은 MRDetect(genome-wide mutational integration)라는 모델을 개발하였다. MRDetect란 변이의 load (검출 사이트 개수)와 sequencing depth, 두 변수의 함수[1]로써 종양분율을 예측하는 것이다. MRDetect는 원발종양의 정보에 기반하여 특정 종양의 변이를 검출하는 방식으로, 원발종양을 일종의 개요서(compendium)로 이용한다. 일종의 양동작전인 orthogonal noise model은 환자가 특이하게 가지고 있는 변이를 다른 혈장 검체의 WGS 결과에 적용해서 환자-특이적이지 않은 artifact(예: MSI)를 거르는 방식으로 진행한다. 이렇게 해서 모든 검출된 변이 중에서 환자의 종양이 특이적으로 가지고 있는 변이만 골라낸다. 본 모델의 검증을 위해 저자들은 다양한 종양에서 발견되는 SNV를 in-silico로 전부 혼합한 데이터를 제작하였는데 이 in-silico 데이터의 모든 변이를 환자의 원발종양에 있던 변이에 매칭시킨다. 통합하는 변이의 수가 늘수록, 오류발생의 가능성이 높아지기 때문에, 환자의 정상조직(종양분율=0)인 matched germline WGS(5-35X)를 보완데이터로 사용하여 노이즈가 어느 정도인지 평가한다. 이 과정을 다음 그림에서 간단히 나타내었다.

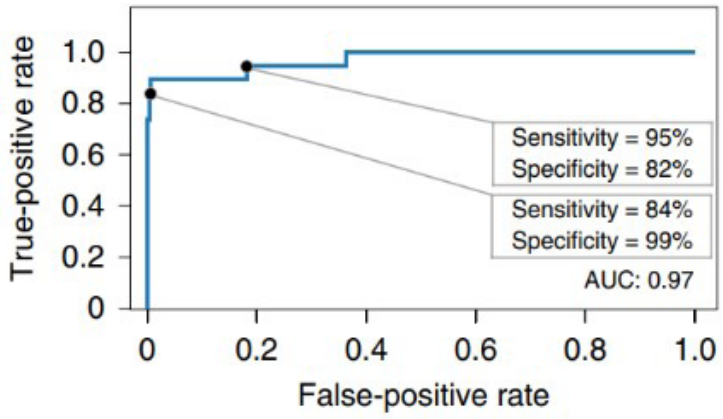
물론 이러한 조작만으로 모든 문제가 해결되는 것은 아니므로, 추가적으로 민감도를 개선하기 위해서는 검사 오류에 의한 noise를 줄여야 했다. 염기서열분석의 품질을 측정하는 여러 계측치를 하나의 기준으로 바꿔야하므로, 저자들은 support vector machine(SVM)을 개발하였다[1]. SVM은 종양분율이 매우 낮아 sequencing depth의 역보다 더 낮은 상황에서 적용하기 위해 디자인한 모델로 SMV의 거르기 전략으로 노이즈를 14.4배 감소시켜 염기서열분석상의 오류를 1/10,000 base까지 낮추고 검사의 특이도를 95%까지 높일 수 있었다. >10,000개의 SNV 검출 시 표준 세팅의 depth에서도 종양검출의 민감도가 10-5까지 개선되었다(20X depth에서 85%, 50X depth에서 99% 검출률).



악성흑색종의 in-silico 데이터[depth(10-120X), mutation load (2,000-63,000), 종양분율(10-6-10-3)의 다양한 성상을 가진 검체들의 혼합]로 시행한 평가에서, 변이하중(mutational load)가 높을 경우, 120X depth로 10-6까지의 종양분율을 검출해낼 수 있어 민감도는 더욱 높아졌다.



MRDetect 모델로 얻어진 높은 민감도가 실제로 임상에서 술 후 잔류종양을 검출할 수 있는 지를 대장직장암 환자에서 영상검사와 비교하였고 이 때는 robustness를 더욱 강화하기 위해서 WGS데이터를 다운샘플링 방식으로 부트스트랩했다. 그 결과 수술 후 짧은 기간 내에 MRD cfDNA detection으로 영상검사보다 이르게 재발을 예측할 수 있었고 민감도와 특이도는 다음과 같았다.



본 실험모델에서 특히 유의해야 할 점은 하나의 환자-특이적인 SNV 사이트 검출로 어떤 해석을 하여서는 안 되며, 함수로 나타내어지는 전체적인 변이 세트의 구성과 변이 검출률을 종합적으로 해석해야 한다는 것이다.

검사의 수행력 자체는 그대로이면서 분석인자에 변화를 주어 민감도를 높인다는 발상은 어찌 보면 환자의 임상, 영상, 검사 결과를 종합하여 진단 확률을 높인다는 지극히 전통적인 진단 개념과 맞닿아 있어서 흥미롭다. 또한 수동적으로 기술 발전을 기다리지 않더라도 SNV 패널 선정과 데이터 조작으로 진단력을 높일 수 있다는 점에서 많은 진단검사의들의 도전 정신을 자극할 수도 있겠다.

본고에 언급된 함수를 포함한 실험방법의 구체적인 내용과 사용한 데이터, 기타 추가 정보는 https://doi.org/10.1038/ s41591-020-0915-3 에서 찾아볼 수 있다.

[Reference]

1. Zviran, A., Schulman, R.C., Shah, M. et al. Genome-wide cell-free DNA mutational integration enables ultra-sensitive cancer monitoring. Nat Med 26, 1114–1124 (2020). https://doi.org/10.1038/s41591-020-0915-3

최신 보험정보

항 목	제 목	세부인정사항	고 시
누658 핵산증폭	코로나바이러스 감염증-19 [실시간 역전사 중합효소연쇄반 응법]검사의 급여기준	1. 코로나바이러스감염증-19 [실시간역전사중합효소연쇄반응법] 검사는 식품의약품안전처장이 긴급사용을 승인한 검사 시약을 사용한 검사에 한해 '누-658 라. 핵산증폭-정성그룹4-메르스 코로나바이러스[실시간역전사중합효소연쇄반응법] 소정점수를 산정 (단, 신종 감염병 관리의 목적으로 청구코드는 한시적으로 D6584, 검사항목별 세부코드는 (04)로 기재)하며 다음과 같이 요양급여를 인정함 -다 음- 가. 질병관리본부 「코로나바이러스감염증-19 대응 지침」*에 따른 확진환자, 의사환자, 조사대상 유증상자 등의 진단 및 추적관찰을 위해 실시하는 경우 인정함 * 진단검사 시행 당일 유효한 질병관리본부「코로나바이러스감염증-19 대응 지침(지자체용)」의 사례정의를 기준으로 하며,「감염병의 예방 및 관리에 관한 법률」제11조에 따라 관할 보건소를 거쳐 질병관리본부에 신고되어야 함 나. 요양병원, 정신의료기관(상급종합병원, 종합병원은 제외)에 입원하는 코로나19 관련 임상증상이 없는 환자에게 선별목적으로 실시하는 경우 1회 인정하며「선별급여 지정 및 실시 등에 관한 기준」에 따라 본인부담률 50%로 적용함 다. 다음의 사회복지시설에 입소하는 코로나19 관련 임상증상이 없는 이용자에게 선별목적으로 실시하는 경우 1회 인정하며「선별급여 지정 및 실시 등에 관한 기준」에 따라 본인부담률 50%로 적용함 1)「노인복지법」제31조제2호에 따른 노인의료복지시설 2)「장애인복지법」제58조제1항제1호에 따른 장애인 거주시설 라. 상기 가., 나. 및 다. 이외에 환자가 원하여 시행하는 경우 등은 전액 본인부담으로 함 2. 동 검사를 요양급여로 실시할 수 있는 기관은 질병관리본부 예규 「감염병 체외진단용 의료기기 긴급사용에 관한 규정」에 따라 지정을 받은 요양기관으로 함	보건복지부 고시 제 2020-106호 (2020년 5월 28일 시행)

항 목	제 목	세부인정사항		고 시
누591 핵산증폭	누591나(07) B군 사슬알균의 급여기준	누-591나 핵산증폭-정성그룹2-(07)B군 사슬알균 [중합효소연쇄반응-교잡반응법]은 B군 사슬알균 집락화를 확인하는 검사로, 진통이 있는 임신 35-37주 고위험군 임산부를 대상으로 다음 중 어느 하나에 해당하는 경우에 요양급여를 인정함. - 다 음 - 가. 과거 임신 시 37주 이전의 조기진통, 조산 또는 양막파열의 병력이 있는 경우 나. 과거 출산아 중 B군 사슬알균감염을 진단받은 환아를 출생한 이력이 있는 경우 다. 임신 중 B군 사슬알균 세균뇨를 진단 받은 경우	나. 정성그룹2 (07) B군 사슬알균 [중합효소연쇄반응-교잡반응법]	보건복지부 고시 제 2020-110호 (2020년 6월 1일 시행)
사람유전자 분자유전검사 -나580 유전성 유전자 검사	나580다 TPMT Gene 검사의 급여기준	1. 나580나(1) 유전성 유전자검사-중합효소연쇄반응-확장-중합효소연쇄반응-교잡반응 [TPMT Gene], 나580다(1) 유전성 유전자검사-염기서열분석-염기서열반응 Sequencing Reaction 10회 이하 [TPMT Gene], 나580다(2)유전성 유전자검사-염기서열분석-염기서열반응 Sequencing Reaction 10회 초과 20회 이하 [TPMT Gene]은 Thiopurine 제제 투약 중 심한 골수억제 등 약제 부작용이 의심되어 유전변이를 확인하기 위해 실시한 경우 요양급여를 인정함. 2. Thiopurine 제제 투약 계획이 있는 환자 중 상기 1. 이외 실시하는 경우에는 「선별급여 지정 및 실시 등에 관한 기준」에 따라 본인부담률을 80%로 적용함.		보건복지부 고시 제2020 - 135호 (2020년 7월 1일 시행)
사람유전자 분자 유전검사 - 나580 유전성 유전자 검사	유전성 유전자검사 항목별 유전자 종류	다. 염기서열분석 (1) 염기서열반응 Sequencing Reaction 10회 이하	(40) NUDT15 Gene	보건복지부 고시 제2020 - 150호 (2020년 8월 1일 시행)

항 목	제 목	세부인정사항		고 시
사람유전자 분자유전검사 -나580 유전성 유전자 검사	나580 유전성 유전자검사 일반원칙	1. 나580 유전성 유전자검사는 「생명윤리 및 안전에 관한 법률」에 따라 법적(ethical), 윤리적(legal), 사회적(social) 규범을 준수하고, 「IOM의 유전자검사 관련 보고서」*1)에 따라 분석적 타당성(Analytic validity), 임상적 타당성(clinical validity), 임상적 유용성(clinical utility)을 만족해야 하며, 다음과 같은 기준에 따라 요양급여 함. 다만, 이미 진단된 질환에서 단순히 유전자 이상을 확인하기 위하여 시행한 경우는 인정하지 아니함. -다 음- 가. 해당 유전자 검사와 연관된 질환이 임상적으로 의심되어야하고, 유전성 유전자검사 결과가 치료방법의 결정에 필요한 경우에 인정함. 나. 해당 유전자검사가 특정 약물의 심각한 부작용을 의미 있게 예측할 수 있는 경우 인정함. 다. 단순히 질병 발생의 위험률을 보기 위해 시행하지 아니하며, 임상적 소견과 의미있는 가족력*2)이 진료기록부상 확인되는 경우 인정함. 2. 해당 유전자를 검사함에 있어 여러 방법으로 검사를 시행한 경우라도 1종만 인정함. 3. 상기 1.에도 불구하고 「요양급여의 적용기준 및 방법에 관한 세부사항」에서 세부인정사항을 별도로 정한 항목은 해당 고시에서 정한 기준을 따름. 4. 상기 1. 3. 이외 나 580 유전성 유전자검사를 실시하는 경우에는 전액 본인이 부담함. *1) An Evidence Framework for Genetic Testing. 2017. IOM *2) 가족력의 가계도상 가족관계	**표1 [1] (p30)**	보건복지부 고시 제2020 - 135호 (2020년 7월 1일 시행)

항 목	제 목	세부인정사항		고 시
사람유전자 분자유전검사 -나580 유전성 유전자 검사	나580다 BRCA1 Gene, BRCA2 Gene 검사의 급여기준	나580다(4) 유전성 유전자검사-염기서열분석-염기서열반응 40회 초과 80회 이하 [BRCA1 Gene], 나580다(5) 유전성 유전자검사- 염기서열분석-염기서열반응 80회 초과 [BRCA2 Gene]은 다음과 같은 경우에 요양급여를 인정함. - 다 음 - 가. 유방암이 진단되고 환자의 가족 및 친척(3차 관계 이내)*1)에서 1명 이상 유방암, 난소암*2), 남성유방암, 전이성 전립선암, 췌장암이 있는 경우 나. 만 40세 이하에 진단된 유방암 다. 만 60세 이하에 진단된 삼중음성 유방암 라. 양측성 유방암 마. 유방암과 함께 난소암*2) 또는 췌장암이 발생한 경우 바. 남성 유방암 사. 난소암*2) *1) 「나580 유전성 유전자검사 일반원칙」 참고 *2) 상피성 난소암으로 난관암과 원발성 복막암이 포함됨. 단, 조직학적으로 순수 점액성 난소암은 제외.		보건복지부 고시 제2020 - 135호 (2020년 7월 1일 시행)
누658 핵산증폭	각 분류항목별 세부 검사항목	나. 정성그룹2	(11) BK바이러스 [실시간중합효소연쇄반응법]	보건복지부 고시 제2020 - 194호 (2020년 9월 1일 시행)

항 목	제 목	세부인정사항	고 시	비 고
누658 핵산증폭	코로나바이러스 감염증-19 [실시간역전사중합효소연쇄반응법] 검사의 급여 기준	1. 코로나바이러스감염증-19 [실시간역전사중합효소연쇄반응법] 검사는 식품의약품안전처장이 긴급사용을 승인한 검사 시약을 사용한 검사에 한해 누-658 라. 핵산증폭-정성그룹4-메르스코로나바이러스[실시간역전사중합효소연쇄반응법] 소정점수를 산정 (단, 신종 감염병 관리의 목적으로 청구코드는 한시적으로 D6584, 검사항목별 세부코드는 (04)로 기재)하며 다음과 같이 요양급여를 인정함 -다 음- 가. 질병관리본부 「코로나바이러스감염증-19 대응지침」*에 따른 확진환자, 의사환자, 조사대상 유증상자 등의 진단 및 추적관찰을 위해 실시하는 경우 인정함 * 진단검사 시행 당일 유효한 질병관리본부「코로나바이러스감염증-19 대응 지침(지자체용)」의 사례정의를 기준으로 하며,「감염병의 예방 및 관리에 관한 법률」제11조에 따라 관할 보건소를 거쳐 질병관리본부에 신고되어야 함 나. 요양병원, 정신의료기관(상급종합병원, 종합병원은 제외)에 입원하는 코로나19 관련 임상증상이 없는 환자에게 선별목적으로 실시하는 경우 1회 인정하며「선별급여 지정 및 실시 등에 관한 기준」에 따라 본인부담률 50%로 적용함 다. 다음의 사회복지시설에 입소하는 코로나19 관련 임상증상이 없는 이용자에게 선별목적으로 실시하는 경우 1회 인정하며「선별급여 지정 및 실시 등에 관한 기준」에 따라 본인부담률 50%로 적용함 1)「노인복지법」제31조제2호에 따른 노인의료복지시설 2)「장애인복지법」제58조제1항제1호에 따른 장애인 거주시설 라. 코로나19 관련 임상증상이 없는 응급실* 내원환자로서, 중증응급환자** 또는 6시간 이상 지연할 수 없는 응급수술이 필요한 중증응급의심환자**에게 선별목적으로 실시하는 경우 1회 인정하며 코로나바이러스감염증-19 응급용 선별검사와의 동시 실시는 불인정함 *「응급의료에 관한 법률」에 따라 지정된 응급의료기관의 응급실 **「응급의료에 관한 법률 시행규칙」 제18조의3(응급환자의 중증도 분류)에 따른 「한국 응급환자 중증도 분류기준」고시 참고 마. 상기 가., 나. 및 다. 이외에 환자가 원하여 시행하는 경우 등은 전액 본인부담으로 함 2. 동 검사를 요양급여로 실시할 수 있는 기관은 질병관리본부 예규 「감염병 체외진단용 의료기기 긴급사용에 관한 규정」에 따라 지정을 받은 요양기관으로 함	보건복지부 고시 제2020-151호 (2020년7월23일 시행)	(유효기간) 코로나바이러스 감염증-19 검사의 급여기준은 감염병의 대유행 상황 종료에 따라 별도 안내시까지 한시적으로 적용한다.

항 목	제 목	세부인정사항	고 시	비 고
누658 핵산증폭	코로나바이러스 감염증-19 [핵산증폭법] 응급용 선별검사의 급여기준	1. 코로나바이러스감염증-19[핵산증폭법]응급용 선별검사는 빠르게 코로나19 음성을 확인하여 신속한 치료방향 등을 결정하기 위해 선별목적으로 실시하는 검사로 응급 대응 성능 (1시간 내 검사완료)을 고려하여 식품의약품안전처장이 긴급사용을 승인한 응급용 검사 시약을 사용한 검사에 한하여 다음과 같이 요양급여를 인정함 - 다 음 - 가. 급여대상 코로나19 관련 임상증상이 없는 응급실* 내원환자로서, 중증응급환자** 또는 6시간 이상 지연할 수 없는 응급수술이 필요한 중증응급의심환자** *「응급의료에 관한 법률」에 따라 지정된 응급의료기관의 응급실 **「응급의료에 관한 법률 시행규칙」 제18조의3(응급환자의 중증도 분류)에 따른 「한국 응급환자 중증도 분류기준」고시 참고 나. 적용수가 상기도 검체로 실시한 경우에 한하여 누-658 라. 핵산증폭-정성그룹4-코로나바이러스감염증-19[실시간역전사중합효소연쇄반응법] 소정점수를 산정 (단, 신종 감염병 관리의 목적으로 청구코드는 한시적으로 D6584, 검사항목별 세부코드는 (98)로 기재) 다. 인정횟수 1) 응급실 내원시 1회 급여하며, 코로나바이러스감염증-19 [핵산증폭법]응급용 선별검사 결과가 양성***인 경우 코로나바이러스감염증-19[실시간역전사중합효소연쇄반응법]확진검사 (청구코드 D6584, 세부코드(04))의 추가 실시를 인정함 ***「감염병의 예방 및 관리에 관한 법률」제11조에 따라 관할 보건소를 거쳐 질병관리본부에 신고되어야 함 2) 단, 코로나바이러스감염증-19 응급용 선별검사와 코로나바이러스감염증-19 확진검사의 동시 실시는 불인정함 2. 동 검사를 요양급여로 실시할 수 있는 기관은 질병관리본부 예규 「감염병 체외진단용 의료기기 긴급사용에 관한 규정」에 따라 지정을 받은 요양기관으로 하되, 응급검사인 점을 고려하여 검사위탁은 불가함.	보건복지부 고시 제2020-151호 (2020년7월23일 시행)	(유효기간) 코로나바이러스감염증-19 검사의 급여기준은 감염병의 대유행 상황 종료에 따라 별도 안내시까지 한시적으로 적용한다.

항 목	제 목	세부인정사항	고 시
누604 핵산증폭	누604나 핵산증폭-정성그룹3-항결핵약제 내성 결핵균 검사(리팜피신, 이소나이아짓) [중합효소 연쇄반응 교잡반응법]의 급여기준	누604나 핵산증폭-정성그룹3 (03) 항결핵약제 내성 결핵균 검사(리팜피신)[중합효소연쇄반응교잡반응법], 누604나 핵산증폭-정성그룹3 (04) 항결핵약제 내성 결핵균 검사(이소나이아짓)[중합효소연쇄반응교잡반응법]의 급여기준은 다음과 같음. -다 음- 가. 급여대상 결핵균이 확인된 결핵환자 나. 급여횟수 1) 치료기간 중 1회 2) 최초 검사 시 약제내성검사 결과가 음성이었으나 이후 치료 실패가 의심이 되어 시행한 경우 추가 1회 다. 기타 1) 누604나 핵산증폭-정성그룹3 (03)항결핵약제 내성 결핵균 검사(리팜피신)[중합효소연쇄반응교잡반응법], 누604나 핵산증폭-정성그룹3 (04)항결핵약제 내성 결핵균 검사(이소나이아짓)[중합효소연쇄반응교잡반응법]와 동시에 시행하는 누604가 핵산증폭-정성그룹2 (01) 결핵균[중합효소연쇄반응법], 누604나 핵산증폭-정성그룹3 (01) 결핵균[이중중합효소연쇄반응법], 누604나 핵산증폭-정성그룹3 (02) 결핵균 [중합효소연쇄반응교잡반응법]은 요양급여하지 아니함 2) 누604나 핵산증폭-정성그룹3 (03)항결핵약제 내성 결핵균 검사(리팜피신)[중합효소연쇄반응교잡반응법], 누604나 핵산증폭-정성그룹3 (04)항결핵약제 내성 결핵균 검사(이소나이아짓)[중합효소연쇄반응교잡반응법], 누604나 핵산증폭-정성그룹3 (05) 결핵균 및 리팜핀, 이소나이아짓 내성검사[실시간중합효소연쇄반응법], 누604다 핵산증폭-정성그룹4 (01) 결핵균 및 리팜핀 내성검사[실시간 이중중합효소연쇄반응법]는 내성검사 결과가 위양성(위음성)으로 의심되어 내성에 대해 재확인이 필요한 경우에만 중복하여 요양급여함	보건복지부 고시 제2020-163호 (2020년 8월 1일 시행)

항 목	제 목	세부인정사항	고 시
사람유전자 분자유전검사 - 나580 유전성 유전자 검사	나580다 MLH1 Gene, MSH2 Gene 검사의 급여기준	나580다(3) 유전성 유전자검사-염기서열분석-20회 초과 40회 이하 (19) MLH1 Gene, 나580다(3) 유전성 유전자검사-염기서열분석-20회 초과 40회 이하 (20) MSH2 Gene 검사는「나580 유전성 유전자검사 일반원칙」에 따르며, 다음과 같은 경우 요양급여를 인정함. - 다 음 - 가. 유전성 비용종증 대장암이 의심되는 환자로서 아래 사항을 모두 충족하는 경우 1) 한 가계 내에서 조직학적으로 증명된 유전성 비용종증 대장암(Hereditary non-polyposis colorectal cancer, HNPCC)의 관련암 환자가 3명 이상이고, 2) 이들 중 1명은 나머지 2명에 대하여 1차(first-degree) 관계여야 하며, 3) 이들은 가계 내에서 연속된 2차(second-degree)에 걸쳐 존재하고, 4) 이 중 1명은 진단 시 연령이 만50세 미만일 경우에 인정 나. 아래에 해당되는 경우로서, '부적합 결합 DNA교정 유전자에 대한 면역조직(세포)화학검사 결과 관련 유전자의 발현 이상'이 확인되거나, 'DNA를 이용한 현미부수체 불안정성 검사 결과 고빈도 현미부수체 불안정성(Microsatellite instabillity-High, MSI-H)'으로 확인된 경우 1) 만50세 미만에 대장암 진단을 받은 경우 2) '이시성(metachronous) 또는 동시성 (synchronous) 대장암'이거나 '이시성 또는 동시성 HNPCC 관련암'인 경우 3) 만60세 미만에 대장암 진단을 받고, MSI-H에 특징적인 병리소견이 하나라도 있는 경우 4) 본인이 대장암이면서, 가계도 상 확인되는 1차(first- degree) 관계 가족구성원 중 1명 이상이 만50세 이전에 HNPCC 관련암으로 진단된 경우 5) 본인이 대장암이면서, 가계도 상 확인되는 1차(first- degree) 또는 2차(second-degree)관계 가족구성원 중 2명 이상이 연령에 상관없이 HNPCC 관련암으로 진단된 경우 다. 상기 가. 나. 의 급여대상 중 다른 조건은 충족되나 가족의 사망 등으로 가계도 확인이 불가한 경우는「선별급여 지정 및 실시 등에 관한 기준」에 따라 본인부담률을 80%로 적용함. ※ 참고- HNPCC 관련암은 대장암, 소장암, 자궁내막암, 위암, 난소암, 췌장암, 담도암, 요관암, 신우암, 교모세포종, 피지선종, 각질가시세포종 - MSI-H 특징적인 병리소견은 종양 내 고도의 림프구 침윤소견, 크론양 염증반응, 점액성암, 인화세포암, 수질암	보건복지부 고시 제2020-163호 (2020년 8월 1일 시행)

항 목	제 목	세부인정사항		고 시	비 고
누658 핵산증폭 누680 핵산증폭	코로나 바이러스 감염증-19 [핵산증폭법] 응급용 선별검사의 급여기준	1.코로나바이러스감염증-19[핵산증폭법] 응급용 선별검사는 빠르게 코로나19 음성을 확인하여 신속한 치료방향 등을 결정하기 위해 선별목적으로 실시하는 검사로 응급 대응 성능 (1시간 내 검사완료)을 고려하여 식품의약품안전처장이 긴급사용을 승인한 응급용 검사 시약을 사용한 검사에 한하여 다음과 같이 요양급여를 인정함 -다 음- 가. <현행과 같음> 나. 적용수가 상기도 검체로 실시한 경우에 한하여 코로나바이러스감염증-19 응급용 선별검사 유형에 따라 표와 같이 수가를 적용하며, 신종 감염병 관리의 목적으로 청구코드는 한시적으로 기재함 다. <현행과 같음> 2. 동 검사를 요양급여로 실시할 수 있는 기관은 코로나바이러스감염증-19 응급용 선별검사 유형에 따라 아래와 같으며 응급검사인 점을 고려하여 검사위탁은 불가함. -아 래- 가. 질병관리본부 예규 「감염병 체외진단용 의료기기 긴급사용에 관한 규정」에 따라 지정을 받은 요양기관 1) 코로나바이러스감염증-19 [핵산증폭법] 응급용 선별검사 I 2) 코로나바이러스감염증-19 [핵산증폭법] 응급용 선별검사 III (COVID-19를 포함한 호흡기 바이러스, 폐렴원인균) 나.「응급의료에 관한 법률」에 따라 지정된 응급의료기관으로 진단검사의학과 전문의가 상근하는 기관 1) 코로나바이러스감염증-19 [핵산증폭법] 응급용 선별검사 II	**표2 [2] (p30)**	보건복지부 고시 제2020-167호 (2020년 8월6일 시행)	(유효기간) 코로나바이러스감염증-19 검사의 급여기준은 감염병의 대유행 상황 종료에 따라 별도 안내시까지 한시적으로 적용한다.

항 목	제 목	세부인정사항		고 시
사람유전자 분자유전검사 - 나580 유전성 유전자 검사	유전성 유전자 검사 항목별 유전자 종류	나. 중합효소연쇄반응-확장 (1) 중합효소연쇄반응-교잡반응	(10) RNF213 Gene, p.R4810K	보건복지부 고시 제2020 - 194호 (2020년 9월 1일 시행)
		나. 중합효소연쇄반응-확장 (1) 중합효소연쇄반응-교잡반응 주: 유전자 다종검사 ((별첨) 세부기준 참조)	(01) 유전성 난청 관련 유전자 (GJB2, SLC26A4, 12SrRNA, TMPRSS3, CDH23, OTOF, COCH, ATP1A3, MPZL2, TMC1) 1. 나580나(1)주(01) 중합효소연쇄반응-교잡반응- 유전자 다종검사-유전성 난청 관련 유전자의 급여기준은 다음과 같이함. -다 음- 가. 선천성 난청이 확진된 경우 나. 중이가 정상이지만 난청이 확진된 유소아 다. 난청을 동반하는 증후군 환자 라. CT, MRI에서 내이 기형이 확진된 경우 마. 원인불명의 진행성 난청 환자 바. 가족 중 유전성 난청이 확인된 환자가 있으며, 동일 질환이 의심되어 실시한 경우 2. 상기 1. 이외 유전성 난청이 의심되어 실시하는 경우에는 「선별급여 지정 및 실시 등에 관한 기준」에 따라 본인부담률을 80%로 적용함. 3. 상기 1. 또는 2.에 해당되지 않는 경우에는 「국민건강보험 요양급여의 기준에 관한 규칙」 [별표2] 비급여대상 제3호가목 본인의 희망에 의한 건강검진에 따라 비급여 대상임. (02) 와파린 관련 유전자 (CYP2C9, VKORC1) 나580나(1)주(02) 중합효소연쇄반응-교잡반응-유전자 다종검사-와파린 관련 유전자는 와파린 용량 결정을 위해 실시하는 나580나(1) 중합효소연쇄반응-교잡반응 (02) CYP2C9 Gene, (08)VKORC1 Gene과 중복하여 산정할 수 없음.	보건복지부 고시 제2020 - 194호 (2020년 9월 1일 시행)

1) 표1

구분	가족구성원
1차 (First-degree relatives, FDR)	부모, 형제자매, 자녀
2차 (Seoond- degree relatives, SDR)	조부모, 부모님의 형제자매, 손자/손녀, 조카, 이복형제
1차 (Third-degree relatives, TDR)	증조부모, 증손, 사촌

2) 표2

유형	적용수가	청구코드
코로나바이러스감염증-19 [핵산증폭법] 응급용 선별검사 I	누-658 라. 핵산증폭 -정성그룹4- 코로나바이러스감염증-19 [싱시간역전사중합효소연쇄반응법] 소정점수	D6584, 세부코드 98
코로나바이러스감염증-19 [핵산증폭법] 응급용 선별검사 II		D6584, 세부코드 99
코로나바이러스감염증-19 [핵산증폭법] 응급용 선별검사 III (COVID-19를 포함한 호흡기 바이러스 폐렴원인균)	누-680 나. 핵산증폭 -다종그룹2 소정점수	D6802, 세부코드 98

대한진단유전학회 2020년도 제15차 학술대회

비대면 라이브(Live) 생중계 온라인 개최

대한진단유전학회(회장 전창호)는 8월 28일(금) 스위스그랜드호텔에서 연자, 좌장, 사회자만 참석한 가운데, 코로나 확산 방지를 위한 비대면 라이브(Live) 생중계로 온라인으로는 처음으로 학술대회를 개최하였다.

전창호 대한진단유전학회장은 개회사에서 "매우 어려운 시기에 학술대회를 개최하게 되었고, 5월말에 정기 개최하기로 되어 있었으나 2번이나 미루게 되었고 새로운 학문에 정진할 것을 게을리 할 수 없었기에 온라인으로 개최 준비하게 되었다." 고 첫 포문을 열었다. 덧붙여 이번 학술대회는 "다양한 경험과 지식들을 공유하고 나날이 변화하는 분자진단 시대를 준비하는 소중한 시간이 될 것이며, 앞으로도 본 학회는 좋은 강좌와 증례를 마련하여서 연구와 업무를 수행하시는 회원 여러분들께 대한진단유전학회가 든든한 동반자가 되겠다." 고 개회사를 마무리 했다.

온라인으로 참여한 회원 수는 총 350명 등록하였으며, 이번 온라인 학술대회는 대한의사협회 평점(6점)과 대한임상병리사협회 평점(1점) 및 대한진단검사의학회 책임전문의 평점(1점)이 부여되며, 온라인으로 진행되는 특성상 행사당일 참석한 시간만 평점이 인정된다.

온라인 학술대회에서는 세션마다 참가자가 실시간 댓글로 질의 하고, 전문가들의 강연발표가 끝나고 실시간 댓글로 Q&A가 활발히 이뤄졌다. 라이브로 진행되는 만큼 시간안배가 중요하였는데, 발표자로 참석해주신 연자님들께서 제시간에 도착하여 주셔서 순조롭게 라이브 생중계가 진행되었다.

이번 학술대회 프로그램은 COVID-19관련 특강, 다양한 Symposium 세션 및 Industry Workshop으로 구성하였으며, Exosome의 기본과 적용분야, 임상 유전학 및 유전체학의 최신동향, 차세대 염기서열 분석(NGS) 기술 발전과 임상적용, 유전성 질환 치료의 현재와 미래 등 기초의학부터 진단 및 치료에 이르는 폭넓은 내용을 다루었다.

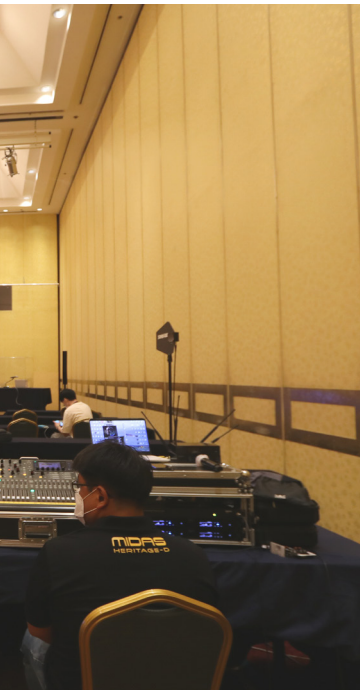
특히 이번 하이라이트인 COVID-19 특강에서는 전창호 회장을 좌장으로 ▲COVID-19의 역학 및 임상 양상(이혁민, 연세대 세브란스병원 진단의학과 교수) ▲COVID-19의 진단검사(홍기호, 서울의료원 진단검사의학과 과장) ▲COVID-19 변이 분석(성문우, 서울대병원 진단검사의학과 교수)의 특강을 특별히 마련하였다.

유관학회 및 참가회원들은 녹화방송이 아닌 라이브 생중계에 대해 우려했지만, 인터넷으로 강의 듣는데 문제가 전혀 없었다며, 주제와 강의도 훌륭해 만족 스러웠다고 전달받았다.

대한진단유전학회(회장 전창호) 학술대회 준비위원회는 온라인 학술대회 개최 진행을 위해 여러 차례 회의를 시행하여 만반의 준비를 하였다. 또한, 신규 홈페이지 구축을 통하여 개인정보 관리 및 결제, 증명서 발급 등 회원들에게 다양한 편의를 제공할 수 있도록 힘썼다.

라이브 생중계로 진행된 이번 학술대회 강연내용은 대한진단유전학회 학술대회 홈페이지(ksgd2020.org)에서 한달간(4주) 재방기간을 통해 참가 회원들에게 영상물을 제공한다.

2020 KSGD CONFERENCE



P 플래티넘 PLATIUM

한국로슈진단

- 대표제품 KAPA Hyper Exome/Choice/Explorer, cobas CMV, cobas 6800/4800 system
- 회사소개 스위스 헬스케어그룹인 로슈의 진단사업부 국내법인으로서 1990년 외국인 투자기업으로 창립되었으며 혈액, 체액, 조직 등을 검사하여 질병의 조기발견, 예방, 진단, 치료 및 모니터링을 위한 혁신적인 제품과 서비스를 공급하고 있습니다. 로슈진단은 로슈제약과의 공조를 통해 개인의 유전적, 조직적 특성을 진단해 최적의 치료법을 선택할 수 있도록 환자와 의료진 모두를 위한 맞춤의료시대를 본격적으로 열어 인류의 삶의 질을 향상시킬 수 있도록 노력하고 있습니다. 또한 에이온휴잇(Aon Hewitt)이 선정한 '한국 최고의 직장(Best Employer in Korea)' 본상을 2015년, 2016년, 2017년 3회 연속 수상했으며. , 2019년에는 Great Place To Work Institute주관 '대한민국 일하기 좋은 100대기업 대상'을 수상했습니다.

G 골드 GOLD

써모피셔사이언티픽

- 대표제품 Ion Torrent^TM Ion S5 XL(차세대 염기서열분석기, NGS), CytoScan® Dx (마이크로어레이, CMA)
- 회사소개 써모피셔 사이언티픽 (ThermoFisher Scientific)은 전 세계 50여 개 국가, 약 70,000명의 직원들과 함께 연매출 $200억 이상을 달성하는 세계적인 과학 회사입니다. 써모피셔 사이언티픽은 고객들이 세상을 더욱 건강하고, 깨끗하며, 안전하게 만들 수 있도록 돕는다는 사명을 가지고, 생명과학 분야 연구 촉진, 복잡한 분석 난제 해결, 환자 진단 개선 및 의약품 개발, 실험실 생산성 향상에 주력하고 있습니다.

B 브론즈 BRONZE

아스트라제네카

- 대표제품 타그리소 / 린파자
- 회사소개 아스트라제네카는 현재 치료제가 극복하지 못한 난치병 치료의 한계를 뛰어넘고, 환자들의 삶을 변화시키는 의약품을 제공하기 위해 과학적 혁신을 추구하는 글로벌 바이오 제약회사입니다. 세 개의 주요 질환 분야인 암, 심혈관 및 신진대사 질환(CVMD), 그리고 호흡기 뿐만 아니라 자가면역질환, 전염병 및 신경과학질환 등의 치료제의 발굴, 개발, 공급에 집중하고 있습니다. 모든 일의 중심에 과학이 있고, 내리는 모든 결정에 과학을 앞세웁니다. 또한, 지금껏 알려지지 않은 것에 도전하고 한계를 넘기 위한 선택을 하며 매 순간 새로운 문을 엽니다.

엔젠바이오

- 대표제품 BRCAaccuTest PLUS / HEMEaccuTest / SOLIDaccuTest / NGeneAnalySys
- 회사소개 엔젠바이오는 `15년 10월에 설립한 유전체분야소프트웨어 연구개발 및 판매를 하는 정밀의료 회사이며, 다년간의 NGS 기술역량과 경험을 기반으로 한 바이오 및 IT 전문 인력들이 암 체외진단 및 동반진단 분야 등에서 효과성과 안전성이 입증된 유전체분야진단시약 제조/개발과 서비스를 제공하고 있습니다.

바이오세움

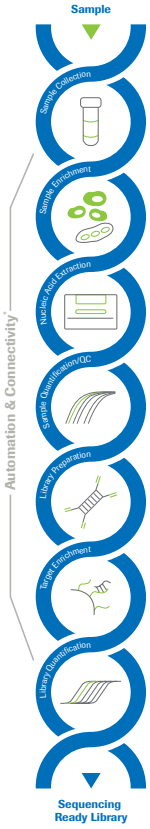
- 대표제품 -
- 회사소개 ㈜바이오세움은 PCR을 기반으로하는 체외진단용 의료기기를 개발 및 생산하며 다양한 품목군으로 구성된 70여개 제품이 있습니다. 당사 제품은 종양, 감염성, 유전질환, HLA typing 관련 제품과 백혈병, 감염성관련 정량진단 제품을 개발, 제조하는 전문 의료기기 제조회사입니다. 품질, 서비스, 연구 등 모든 부분에서 고객만족의 극대화를 최고의 가치로 삼고 있으며 GMP 프로세스를 준수하고 있습니다.

녹십자지놈

- 대표제품 DES/CMA/NGS패널/G-NIPT
- 회사소개 GC녹십자지놈은 GC녹십자의 유전체분석 부문 자회사로서 산전 유전체 및 유전자 검사와 암유전체 분석, 개인별 약물반응 예측 등 유전체 분석을 통한 질병 진단 서비스 사업을 진행하고 있습니다. GC녹십자지놈은 향후 유전체 분석정보를 활용한 맞춤 치료를 실현하여 건강산업의 패러다임을 바꿔나가고, 유전체 분석 시장의 리더로 성장해 나갈 것입니다.

Roche Sample Prep Solutions for RNA-Seq

Sequence what matters



KAPA RNA Hyper/Library Prep

NGS workflow에서 가장 첫번째 단계는 샘플의 잠재력을 풀어내는 열쇠와 같은 단계입니다. 소중한 NGS Sample로부터 더 많은 정보를 얻어내기 위해서, 샘플이 성공적으로 library 제작까지 잘 진행되는 것이 매우 중요합니다. 로슈의 Sample Prep solution은 다양한 샘플 타입과 RNA-Seq application에서 증명되었고, 간단하며 완성형입니다.

Benefits:

- RNA Enrichment를 포함하여 Single-day Libaray 제작 가능
- 자동화가 가능한 RNA enrichment 와 Library 제작 프로토콜
- 다양한 샘플타입과 input 양에서도 신뢰가능한 성능
- 적은 input 양과 degraded 된 어려운 샘플에서도 높은 Success rate
- RNA부터 Sequencing 에 바로 사용 가능한 library 제작까지 모든 과정을 아우르는 Service &Support

Cat. No	KAPA Code	Description	Kit Size
8098107702	KK8541	KAPA RNA HyperPrep Kit	96rxn
8098123702	KK8581	KAPA mRNA HyperPrep Kit	96rxn
8098140702	KK8561	KAPA RNA HyperPrep Kit with RiboErase (HMR)	96rxn

*Products in development
Data on file. PMR-200714T113719
For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

Roche Diagnostics Korea Co., Ltd.
4F, Seokyung Bldg., 1000-3 Daechi-dong, Gangnam-gu,
Seoul 06174, Korea

Unlock the Potential of Every Sample

ion torrent

The Genexus System

전세계 최초 자동화 NGS 시스템!

- 두 번의 조작과 10분의 hands-on time
- 샘플 준비부터 리포트 작성까지 단 하루만에 가능!
- 적은 수의 샘플도 경제적으로 실험

- Lysate from FFPE tissue
- Plasma
- Whole blood
- Peripheral blood leukocytes (PBLs)
- Lysate from fresh-frozen tissue
- Lysate form bone marrow

Ion Torrent™ Genexus™ Purification System

Automated nucleic acid extraction, purification, and quantification*

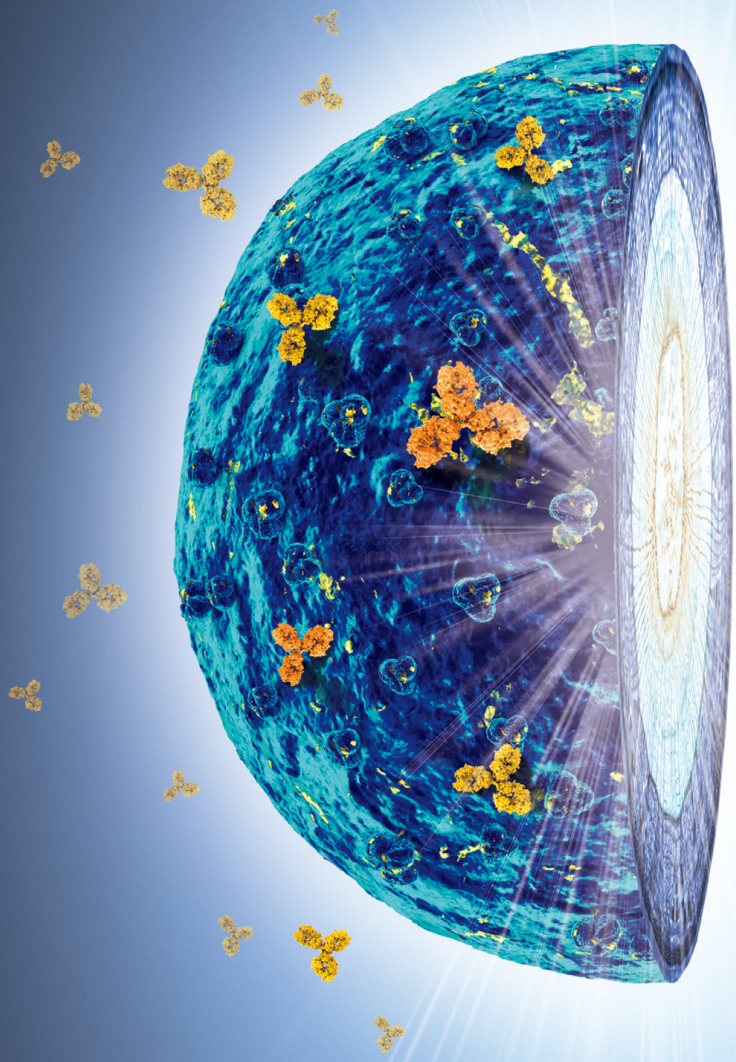
Ion Torrent™ Genexus™ Integrated Sequencer

Automated library preparation, sequencing, variant analysis, and report*

Find out more at **thermofisher.com/genexus**

ThermoFisher SCIENTIFIC

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.



WE CANcer CHANGE

혁신을 통한
끊임없는 도전
건강한 삶을 위한
행복한 변화

아스트라제네카 항암사업부가 함께 합니다

AstraZeneca

한국아스트라제네카 | 서울시 강남구 영동대로 517 아셈타워 21층 | TEL. 02-2188-0800 FAX. 02-2188-0852

We Can Change

AstraZeneca Korea Oncology

KR-38071 | Exp 20210213

대한진단유전학회
Korean Society for Genetic Diagnostics

ksgd.org 02-772-9004 ksgd.office@gmil.com 04323 서울시 용산구 한강대로 372 센트레빌아스테리움 A동 505호