

악성 고형암의 항암제 동반진단 기술에서 분자진단기술의 적용

Application of Molecular Diagnostics Technology in the Development of a Companion Diagnostics for Malignant Solid Tumors

김진희

청주대학교 보건의료대학 임상병리학과

Jin-Hee Kim(jinheekim@cju.ac.kr)

요약

악성종양은 양성종양과 달리 전이가 가능하고 재발이 쉬울 뿐 아니라 생존율 및 삶의 질이 떨어지는 질환이다. 국내의 경우 악성종양 치료 시 건강보험심사평가원이 제시한 항암화학요법 일반원칙에 따라 일괄적으로 치료하는 경향이 있다. 하지만 근래에는 일방적인 약물치료보다는 동반진단제를 사용을 권고하는데 이는 바이오마커를 이용한 분자진단기법으로 동반진단하여 치료 전에 환자의 약물 반응을 예측할 수 있기 때문이며, 국내의 식품의약품안전처에서는 의약품의 반응성 및 안전성을 확보하기 위하여 신약개발 단계에서 동반진단제를 함께 개발하기를 권고한다. 본 중설에서는 악성 고형암을 중심으로 동반진단제의 개발방향 및 개발현황을 문헌고찰을 통해 분석하였고, 동반진단제로 사용되는 다양한 분자진단기법, 예컨대 면역조직화학염색법, 중합효소연쇄반응법, 제자리부합법, 차세대염기서열분석법 등에 따른 동반진단제 개발현황 및 미국 식품의약품안전청의 승인사례를 조사하여 최신 동반진단 개발동향을 함께 살폈다. 그리고 동반진단제 개발과정에서 기술적 사항으로 허가시점에 맞춘 분자진단기술을 선택과 진단제에 대한 명확한 기전이해와 더불어 치료와 동반진단제의 융합을 제언하였고, 사회적으로 동반진단제에 대한 공공보협의 급여책정이 필요함을 제언하였다.

■ 중심어 : | 악성종양 | 고형암 | 동반진단제 | 분자진단기술 |

Abstract

Unlike benign tumors, malignant tumors are capable of metastasis, easy to relapse, poor survival, and low quality of life. In Korea, here is a tendency to treat the tumors collectively according to the General Principles of Cancer Chemotherapy(GPCC) of the Health Insurance Review & Assessment Service (HIRA). But recently, companion diagnostics(CDx) is recommended rather than unilateral medication because biomarker-based molecular diagnostics is possible to predict the drug response of patients before drug treatment. Not only domestic but also overseas Food and Drug Administration (FDA) recommends the development of the CDx system at the stage of drug development to ensure the responsiveness and safety of medicines. In this study, I focused on the necessity of CDx development direction as well as CDx development status through literature review. Furthermore I also discussed CDx types according to the molecular diagnostic technology such as immunohistochemistry (IHC), polymerase chain reaction (PCR), in situ hybridization (ISH), and next-generation sequencing (NGS) not only in the approved CDx but also in the developing one by US FDA. And I suggested the technology issue of CDx development process such as a selection of molecular diagnostics at the time of release, a clear understanding of the CDx mechanism, and a convergence of drug with CDx development. The necessity of social insurance system also was proposed for CDx development.

■ keyword : | Malignant Tumor | Solid Tumor | Companion Diagnostics | Molecular Diagnostics Technology |

* 이 논문은 2017-2018학년도에 청주대학교 보건의료과학연구소가 지원한 학술연구조성비(특별연구과제)에 의해 연구되었습니다.

접수일자 : 2019년 01월 23일

수정일자 : 2019년 02월 21일

심사완료일 : 2019년 02월 27일

교신저자 : 김진희, e-mail : jinheekim@cju.ac.kr

1. 서론

1. 종양의 정의와 분류

종양은 조직(組織, tissue)의 자율적인 과잉 성장의 결과이며, 우리 몸속에서 비정상적으로 자라는 조직 덩어리이다. 종양은 신생물(新生物)이라고도 하는데, 영어로 neoplasia (new+growth, 네오플라지아)라고 하며 새로운 성장이라는 뜻으로 통상 tumor(튜머)라는 말을 더 많이 사용한다[1].

종양은 병리학적으로 큰 범주에서 양성종양과 악성종양으로 나뉜다[표 1]. 일반적으로 양성종양은 천천히 자라며 침윤(浸潤, invasion)이 없고 피막을 형성하여 경계가 뚜렷하므로 수술 시 절제가 용이하고 전이(轉移, metastasis) 및 재발이 없다. 반면 악성종양은 성장속도가 빠르고 침윤이 있으며 피막을 형성하지 않아 경계가 불분명하여 수술 시 절제가 어렵다. 뿐만 아니라, 수술 후 재발 가능성이 높으며 예후가 좋지 않고 전이가 가능한데, 전이는 악성종양만의 특징이라 할 수 있다[2]. 한편, 악성종양은 종양의 발병 부위에 따라 크게 고형암과 비고형암(혈액암)으로 구분할 수 있다. 고형암은 위, 장간, 폐, 유방 등 장기에 발생하는 종양으로 암세포의 크기가 커지면 종양을 이룬 형태를 알 수 있다. 반면 비고형암은 혈액 내에서 발생하기 때문에 형태가 분명하지 않다. 대표적인 예로 백혈병이 있다[3].

표 1. 양성종양과 악성종양의 특성 비교

특성	양성종양	악성종양
성장속도	천천히 자람	빨리 자람
성장양식	종양이 커지지만 침윤없음	종양이 커지면서 침윤있음
피막형성 여부	피막을 형성하므로 수술적 절제가 쉬움	피막을 형성하지 않아 경계가 뚜렷하지 않음
세포특성	분화가 잘되며 세포가 성숙함	분화가 잘 안되며 세포가 미성숙함
전이여부	전이 없음	전이가 흔함
재발여부	재발 거의 없음	수술 후 재발 가능
예후	좋음	종양의 크기(T), 림프절의 침범여부(N), 전이 유무(M)에 따라 다름

* T: tumor, N: lymph node, M: metastasis

2. 악성종양의 치료

모든 질병이 그러하듯 악성종양의 경우에도 발병 전 예방이 가장 중요하다. 발병 후 가급적 조기진단 및 치료가 중시되지만 발병에서 진단까지 시간적 거리가 있다면, 악성종양의 병기·발병부위 및 환자의 상태를 고려하여 치료해야한다. 치료방법은 크게 수술, 항암화학요법, 방사선치료로 구분하며 전략적으로 병용요법을 계획할 수 있다. 악성종양이 발병한 장기의 종류와 위치에 따라 호르몬 치료, 레이저 치료 등을 시행할 수 있으며, 최근에는 면역요법, 유전자요법, 줄기세포요법까지 치료에 포함시키기도 한다[4]. 어떠한 치료전략이든 암으로 인한 조직의 구조적·기능적 손상을 회복시켜 환자를 치유하는 것이 우선이며 만일 치유가 불가능한 경우 암의 진행을 막고 증상을 완화시켜 생존율을 증가시키거나 삶의 질을 증가시키는 방향으로 설정해야 한다.

악성종양의 항암화학요법은 치료의 시기와 약제의 기전에 따라 분류 가능한데, 먼저 항암화학요법의 시기에 따라 크게 3 가지로 구분할 수 있다. 첫째, 전신치료요법으로 수술 후 예측하지 못한 미세전이(微細轉移, micrometastasis)의 억제를 위해 보조 항암화학요법(adjuvant chemotherapy)으로 사용하는데 이는 암의 재발을 막고 생존율을 높이는 효과를 기대할 수 있다. 둘째, 외과적 수술의 성공률을 높이기 위해 종양의 크기를 감소시키거나 미세전이의 파괴를 유도하는 선행 항암화학요법(neoadjuvant chemotherapy)이 있다. 셋째, 말기 암 환자에게서 나타나는 증상의 경감을 위해 시행되는 고식적 항암화학요법(palliative chemotherapy)요법이다[5]. 항암화학요법은 항암제의 성분과 기전에 따라서도 구분이 가능한데, 하나는 세포독성 항암제이고 다른 하나는 표적치료제이다. 전자는 전세계 항암제 시장에서 가장 높은 비중을 차지하는 치료법으로 암세포의 급속한 성장과 분열을 방지하는 공통된 기전을 가지고 있다[6]. 세포독성 항암제의 세부기전은 첫째, DNA의 구조 형성에 영향을 주거나 둘째, 세포질 내 미세소관을 표적하거나 셋째, 세포대사를 억제하는 방식으로 암세포를 공격하여 효과적인 치료효과를 나타낼 수 있지만, 정상세포 역시 암세포와 동일한 기전으로 살아가기 때문에 세포독성 항암제 투여 시 구토 등의

부작용이 나타날 수 있다. 특히 모나이나 위 내벽과 같이 신체 내에서 빠르게 분열하는 정상세포의 성장이나 기능에 영향을 준다[표 2][7].

한편, 최근 생명공학기술의 발전으로 암세포만 가지는 특징이 규명되면서 암세포만을 공격하는 표적치료제의 개발이 증가하고 있고 이 중 일부는 시판되었다. 표적치료제의 장점은 첫째, 암세포의 성장과 관련된 수용체나 효소 등을 억제하여 암의 증식과 전이를 막을 있고 둘째, 암세포만 선택적으로 공격하기 때문에 상대적으로 정상세포의 손상을 최소화할 수 있다. 표적치료 항암제는 이름의 어미만 봐도 기전을 알 수 있는데, 어미가 -mab으로 명명되는 단클론 항체(monoclonal antibody) 계열과, -nib으로 명명된 저해제(inhibitor) 계열, 그리고 면역치료제이다[8]. 동반진단제는 표적치료제가 진단제와 치료제를 동시에 사용되도록 허가됐을 때, 처방 전 약물의 효과 및 독성의 개인차를 예측하여 적합한 약물을 적절한 용량으로 적절한 시기에 투약함으로써 최대의 효과와 최소한의 이상반응을 이끌어내는 방법이다[9].

본 연구에서는 문헌고찰을 통해 최근 각광받고 있는 동반진단제의 개발방향 및 개발현황을 분자진단기술에 따라 분석하였고, 이를 바탕으로 최신 동반진단제 개발의 연구개발 방향에 대하여 제언하였다. 본 종설에서는 다음과 같은 제한점을 둔다. 첫째, 목표 질환을 악성종양 중 고형암을 대상으로 한다. 둘째, 항암치료법 중 표적치료제의 동반진단을 대상으로 국한한다. 셋째, 동반진단제형은 분자진단 기법에 한정한다. 넷째, 일반적으로 분자기술은 핵산(nucleic acid)을 대상으로 분석을 하는 기법이나 본 종설에서는 목표 분자(target molecule)를 가진 모든 진단기법을 분자진단이라 명명한다. 다섯째, 허가 등 각종 규제사항은 한국과 미국으로 제한한다.

표 2. 기전에 따른 세포독성 항암제의 분류

대분류	소분류	제제명칭	기전
Alkylating agent	Nitrogen mustard	Mechlorethamine, Cyclophosphamid, Ifosfamide, Melphalan, Chlorambuci	DNA에 결합하여 구조 손상 및 파괴
		Ethylenimine Methylhydrazine	
	Alkyl Sulfonate	Busulfan	
	Nitrosourea	Stereptozotocin, Carmustine, Iomustine	
	Triazine	Dacarbazine	
Antimetabolite	Pyrimidine 유도	5-FU, Capecitabine, Cystarabine, Gemcitabine, Fludarabine	DNA복제 및 세포 생존에 필요한 대사를 억제
	Folate 유도	Methotrexate, Pemetrexed	
	Purine 유도	Mercaptopurine	
Natural material	Camptothecin	Topotecan, Irinotecan	Topoisomerase inhibitor
	Epipodophyllotoxin	Etoposide	
	Taxane	Paclitaxel, Docetaxel	
	Vinca Alkaloid	Vinblastine, Vincristine, Vinorelvine	DNA 염기에 끼어들어 복제 및 전사 억제
	Antibiotics	Dactinomycin, Doxorubicin, Daunorubicin, Mitomycin, Bleomycin, Idarubicin, Mitoxantrone HCL	
Enzyme	Enzyme L-Asparagenase	Enzyme L-Asparagenase	

II. 동반진단제에 대한 문헌고찰

1. 동반진단제의 정의

동반진단제(Companion Diagnostics; CDx)는 환자가 복용할 약물치료에 대한 반응정도를 미리 예측하기 위해 분자진단기법을 이용하여 표적항암제의 효과와 안전을 사전에 검사하는 방법이다[10]. 미국 식품의약품 안전처는 환자 개개인에게 맞는 의약품의 용량과 적합

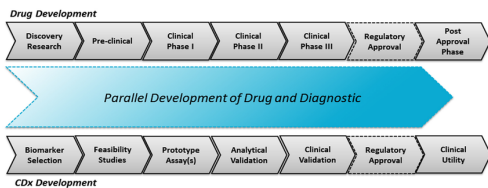


그림 1. 신약개발 과정 중 동반진단제 동시 개발 전략

한 사용법을 찾기 위해 정밀하고 규격화된 진단의 필요성을 인지하고 2004년 환자 선별을 위한 바이오마커 연구와 임상시험을 동시해 진행하는 동반진단의 활용을 권고한 바 있으며, 2014년 신약개발과 동반진단을 의무화하는 가이드라인을 발표했다[11]. 이 가이드라인에 따르면 치료제 개발과 동시에 동반진단을 위한 체외동반기기의 개발과 허가를 함께 진행해야 하며 신약 임상시험 과정에서 체외동반기기 사용을 위한 임상시험 계획서와 동반기기에 대한 임상적 기능에 대한 명확한 근거를 제시해야한다[그림 1]. 우리나라 식품의약품안전처도 2015년 '체외동반진단기기 허가 심사 가이드라인'을 발표했다[12].

2. 신약개발에서 동반진단제 개발경로

신약개발에서 동반진단제의 사용경로는 크게 3 가지로 나눌 수 있다. 첫째, 치료제의 상업화가 진행된 이후 식품의약품안전처의 권고에 의해 규제가 시작된 경우이다. 대표적인 예가 비엠에스(이하, BMS)사의 어비투스(제품명, Erbitux; 성분명, cetuximab(세투스맵))이다. Erbitux는 대장암말기 환자들에게 투여하는 항체치료제로 2004년에 이미 식품의약품안전처에 시판허가를 받았는데 임상적용 결과 Erbitux의 약효와 케이라스(이하, KRAS) 유전자의 활성변이와의 상관관계가 인정되어[9], 식품의약품안전처는 2009년부터 Erbitux 처방시 KRAS 유전자검사를 의무화하도록 조치하고 해당 내용을 라벨(label)에 명시하도록 했다.

둘째, 신약개발 초기단계부터 진단기법과 신약개발을 동시에 시작하는 경우이다. 화이자(Pfizer)사의 폐암 치료제, 젤코리(제품명, Xalcori; 성분명, Crizotinib(크리조티닙))가 대표적이다. 예컨대, Pfizer사는 Xalcori 개발 초기에 약물기전을 명확히 규명하였고[13], 약물기전을 바탕으로 진단기기 전문업체인 에보트(Abott)사와 함께 치료제-진단제 공동개발을 수행하여 임상시험과 식품의약품안전처 승인 절차도 함께 추진했다.

셋째, 상위 치료요법으로 허가범위를 확장하는 경우이다. 2014년 초에 승인된 로슈(Roche)사의 타세바(제품명, Tarceva; 성분명, Erlotinib(엘로티니브))의 1차 치료제 승인이 대표적인 예로, Tarceva는 2004년에 폐

암 환자에 대한 2, 3차 치료제로 승인받아 13억 달러의 수익을 기록했으며(2012년 기준), 지난 십여년 동안의 표피성장인자수용체(epidermal growth factor receptor, 이하 EGFR) 활성변이에 대한 데이터가 있는 폐암환자에 한해 1차 치료제로 Tarceva 처방이 인정되었고 보편적용도 보장되었다[14].

상기 개발경로를 통한 동반진단제 개발에서 유의할 사항은 다음과 같다. 첫째, 목표환자집단의 명확한 기준 설정이다. 세포독성 항암제는 일괄 적용되어 전체 대상환자군을 100이라 가정하면 동반진단제의 환자군은 바이오마커에 한정 될 것이므로 (예컨대 KRAS 유전자의 활성변이 양성 인구는 전체 암환자의 40% 정도) 약물개발 시 목표환자군이 감소할 수 있다. 둘째, 따라서 약물개발 완료 후 기존 세포독성 항암제 대비 환자의 약물 반응률은 증가할 것이나 목표 환자군 감소에 따른 기대 수익률이 감소할 수 있으므로 약물개발단계에서 개발비용과 개발시간을 최소화하는 방법으로 강구해야 하며, 셋째, 정확한 기전에 바탕을 둔 신약개발(초기 기전연구의 필요성)과 진단기기업체와의 공동개발이 필요하다. 넷째, 동반진단제의 유효성 및 안전성이 입증된 경우 1차 치료 항암제로 사용될 수 있다.

3. 동반진단제에서 사용되는 분자진단기법

동반진단제는 바이오마커에 기반하여 사전진단이 필수적이며, 분자병리학적 진단방법에 따라 분류가 가능하다. 면역조직화학염색법(immuno-histochemistry, 이하 IHC), 중합효소연쇄반응법(polymerase chain reaction, 이하 PCR), 제자리부합법(in situ hybridization, 이하 ISH), 차세대염기서열분석(next-generation sequencing, 이하 NGS)법 등의 기법이 대표적인 진단법이라 사용할 수 있다. 예컨대, IHC를 통해 특정 단백질의 과발현을 확인하는 방법을 사용하는 다코(DAKO)사의 허셉 테스트(HerceptTestTM)가 있고, 특정 유전자의 유전자 증폭을 DNA probe를 이용하는 형광 ISH (fluorescence ISH, 이하 FISH)와 색소원 ISH (chromogenic ISH, 이하 CISH) 검사를 통해 확인하는 방법으로 벤타나(Ventana Medical Systems)사의 허투(HER-2/NEU)검사가 있다. 그리고 정량 PCR (quantitative, q-PCR) 등

유전체 기법을 이용하여 바이오마커 유전자의 돌연변이 여부를 검사하는 방법으로 Roche사의 코바스 EGFR 돌연변이 검사(cobas EGFR mutation test)가 대표적이다.

4. 동반진단제 개발현황

현재 항암제 시장의 규모는 매년 증가하고 있으며 2020년까지 약 1,200억 달러의 매출을 예측하고 있다. 연평균 성장률로 계산했을 때 연평균 약 7.1%에 해당한다. 항암화학요법 개발은 세포독성 항암제, 표적 치료제, 호르몬 치료제 순이다.

1997년 이후 ‘표적항암제에 반응하지 않은 환자(non-responder)에게 표적항암제를 처방하는가’에 대한 논란이 큰 이슈로 부각되던 시기에 로슈사가 최초의 유방암 표적항암제인 ‘허셉틴(Herceptin)’과 이에 대한 동반진단제인 ‘허셉테스트(Herceptest)’를 이용하여 표적항암제 시장을 선도했다[15]. 이후 동반진단제 기반의 항암제 처방에 대처하기 위해 2014년 미국 식품의약품안전처는 동반진단제 가이드라인 최종본을 발표했으며, 표적항암제에 대한 동반진단제 개발이 반드시 필요하다고 발표했다. 현재까지 미국 FDA에서는 약 19개의 동반진단제를 허가하였으며 앞으로 동반진단제의 허가는 빠르게 증가할 것으로 예측된다. 뿐만 아니라 분자진단 기술의 발전에 발맞춰 개인 맞춤 치료에 대한 요구가 높아지면서 진단을 위한 바이오마커 발굴 및 동반진단제 개발이 가속화되고 있다.

체외진단용 의료기기(In Vitro Diagnostic Medical Devices: 이하 IVD) 기술 중 PCR 기법이 가장 큰 비중을 차지하며, PCR 기법을 보유한 다국적 회사들의 매출이 점점 증가하는 추세이다[표 3]. 또한 표적치료제에 대한 수요 증가로 동반진단의 시장은 2013~2019년 사이에 매년 18%씩 성장하여 2019년에는 58억 달러에 이른다. 특히, 유방암, 폐암, 대장암, 위암, 흑색종 치료 등의 분야에서 동반진단제의 성장이 빠르며, 이 중 유방암과 폐암에 대한 동반진단제 시장의 성장이 높다[16]. 국내의 경우 종양의 분자진단 기술관련 특허출원 수는 90년대 이후로 꾸준히 증가하고 있으며 2000년대 들어서 미국 다음으로 출원 수가 높다. 최근 국내 기업들이 유전자진단 키트를 개발하여 식품의약품안전처로부터

IVD 승인 또는 신의료기술 인증을 받았거나 건강보험 심사평가원으로부터 비보험 수가를 받아 국내 의료기관에 기(既)판매되어 진단과 표적항암제 처방의 근거로 활용하고 있다[17]. 그러나 이들 유전자진단키트는 ‘처방된 표적항암제와 환자의 약물 반응성’에 대한 임상시험을 시행하지 않아 원론적으로 동반진단제로 허가받은 것이 아니므로 이들을 진정한 동반진단제 개발이라고 명하기 어렵다.

표 3. 분자진단기술의 체외진단시장

기술	2010	2015	2020
Biochip/Array	2,160	3,500	10,600
PCR 기반기술	1,500	2,250	5,800
FISH	1,150	2,300	5,700
FISH외 기타기술	410	1,100	5,400
PCR 관련기술	1,100	2,150	4,800
비 PCR 기술	1,110	2,000	4,300
바이오센서	670	900	3,700
Ex vivo 이미징	1,150	2,300	2,500
합계	9,100	15,700	42,800

(단위: million\$)

III. 분자진단기술에 따른 동반진단제 개발

1. 면역조직화학염색법(IHC)의 적용방법

조직 진단에 이용되는 가장 기본적인 염색방법인 헤마톡실린-에오신(hematoxylin-eosin, HE) 염색은 핵과 세포질을 모두 관찰할 수 있기 때문에 조직 내 암세포의 위치를 판독하는데 사용된다. 한편 조직 내 목표 물질(target molecule)을 특정 항원으로 규정하여 항원-항체 반응을 이용한 염색기법을 IHC라고 한다. IHC는 아직까지도 대부분의 고형암을 진단하는 고전적인 확진법이기 때문에 동반진단 개발에서 가장 많이 적용되고 있다. 그러나 암조직이 이질적 형태(heterogeneous)이기 때문에 암조직의 횡단면(cross section) 염색 후 관독된 결과로 동반진단 되었을 때 약물반응과 관독결과의 관련성에 대한 연구가 필연적이다. IHC는 검출 방식에 따라 형광IHC와 색소원IHC로 나눌 수 있다. IHC 적용에 유의할 것은 첫째, 포르말린 고정과 파라핀 포매(Formalin-Fixed Paraffin-Embedded, 이하 FFPE) 조직의 경우 항원부활이 필수적이며, 항원부활에는 열

(heat)이나 효소(enzyme)를 사용할 수 있다. 둘째, 발색제로 DAB(3, 3'-diaminobenzidine)를 사용하는 경우 내인성 효소 활성을 제거해야 하며, 1차 항체를 반응시키기 전에 정상이차항체 혈청을 이용하여 비특이적 반응을 차단해야 한다. IHC를 이용한 대표적인 동반진단제로, 국내에서도 신의료기술로 인정받은 폐암 동반진단제인 키트루다(제품명, Keytruda; 성분명, Pembrolizumab(펄브롤리주맵))가 있다. 동반진단 방법은 환자의 FFPE 조직에서 PD-L1(programmed death-ligand 1) 단백을 정성적 IHC 법으로 검사하는 방식을 채택하였다[18]. [표 4]은 FDA에 승인된 동반진단기법 중 IHC를 동반진단제로 사용하는 예이다[19].

표 4. FDA에 승인된 IHC 기법을 이용한 동반진단제 현황

암종	바이오마커	의약품	기업	동반진단기법
유방암	HER2/neu	Herceptin, Perjeta, Kadcyla	Dako(Agilent)	Hercep Test
			Abbott Laboratories	Pathvysion HER-2 DNA Probe Kit
		Herceptin	Biogenex	Insite HER-2/neu Kit
			Leica biosystemes	Bond Oracle HER2 IHC System
대장암	EGFR	Erbix, Vectibix	Dako(Agilent)	Dako EGFR PharmDx
위장관 간질성 종양	C-KIT	Glivec	Dako(Agilent)	Dako C-kit PharmDx
비소세포 폐암	ALK	Xalkori	Ventana Medical system (Roche Group)	ALK CDx
	PD-L1	Keytruda	Dako(Agilent)	PD-L1 IHC 22C3 PharmDx
요로상피 세포암	PD-L1	Tecentriq	Ventana Medical system (Roche Group)	Ventana PD-L1 Assay

2. 중합효소연쇄반응법(PCR)법의 적용방법

PCR은 DNA나 RNA 염기서열(sequence)에 이중가닥이나 단일가닥의 특정 염기서열에 시발점(primer) 또는 탐색자(probe)를 붙인 후 열을 이용하여 두 가닥의 DNA 또는 cDNA(complementary DNA)를 한가닥으로 분리하는 열변성 과정(denaturation), 온도를 낮추어 시발체 또는 탐색자를 원하는 서열 말단에 결합

(annealing), 다시 열을 약간 올려서 두 가닥의 DNA 또는 cDNA를 합성하는 중합 반응(extension)을 반복하는 원리로 시행된다. PCR은 정량 여부와 표준물질의 여부에 따라 1~3세대 PCR로 정의할 수 있는데, 1세대 PCR 방식은 목표 유전자 증폭 후 유전자 증폭여부를 아가로스 젤 전기영동을 통해 밴드 상으로 결과를 확인하며, 2세대 PCR 방식은 형광물질을 이용하여 검출목표 유전자의 증폭여부 및 증폭정도를 실시간 확인 할 수 있는 실시간(real-time) PCR 방식이다. 반면 3세대 PCR 방식인 디지털(digital) PCR 방법은 표준물질 없이도 검출목표 유전자의 절대정량이 가능한 방법이다. [표 5]는 FDA에 승인된 동반진단기법 중 PCR를 동반진단제로 사용하는 예이며, 실시간으로 목표유전자의 증폭율을 측정할 수 있다는 측면에서 2세대 PCR법이 가장 많은 허가를 받았다[20]. 국제규격으로 인정되는 미국병리협회(College of American Pathologists, CAP)의 미국 실험실 표준 인증(Clinical Laboratory Improvement Amendments, CLIA)을 위해서는 PCR 후 목표유전자가 정확히 검출되었는지 확인하기 위해 염기서열분석(sequencing) 작업이 필수적이므로 동반진단제 개발에 참고해야한다.

표 5. FDA에 승인된 PCR 기법을 이용한 동반진단제 현황

암종	바이오마커	의약품	기업	동반진단기법
대장암	KRAS	Erbix	Roche	Cobas KRAS Mutation
			Qiagen	Therascreen KRAS RGQ PCR Kit
흑색종	BRAF	Mekinist, Tafinlar	Biomerieux	THxIDTM BRAF Kit
			Zelboraf	Roche
비소세포 폐암	EGFR	Gilotrif, Iressa	Qiagen	Therascreen EGFR RGQ PCR Kit
			Tarceva	Roche

3. 제자리부합법(ISH)의 적용방법

ISH는 조직이나 세포 위에서 특정 DNA 염기서열의 존재유무를 규명하기 위하여 세포배양이나 DNA 추출 과정을 거치지 않고 염색체나 핵의 형태를 그대로 유지한 채 세포 또는 조직을 슬라이드 위에 도말 후 표적유전자의 특정 염기서열과 상보적인 DNA에 형광물질을

붙인 탐색자를 반응시켜 표적유전자의 유무와 위치를 확인하는 방법이다. ISH 적용에 유의할 점은 염색체의 전좌(轉座, translocation)와 재배열(rearrangement)에 따라 탐색자를 제작하는 전략을 달리해야 한다는 것이다[14]. 예컨대 한 염색체 상의 목표 유전자 일부가 다른 염색체로 옮겨졌을 때(전좌), 이중 융합 탐색자(dual fusion probe)를 사용하고, 염색체가 재배열되었을 때 브레이크 어파트 탐색자(break apart probe)를 사용할 수 있다. [표 6]는 FDA에 승인된 동반진단기법으로 중 ISH를 동반진단제로 사용하는 예이다[21].

표 6. FDA에 승인된 ISH 기법을 이용한 동반진단제 현황

암종	바이오 마커	의약품	기업	동반진단기기	기술
유방암	HER2/neu	Herceptin, Perjeta, Kadcyla	Dako (Agilent)	Inform HER-2/neu	FISH
				Inform HER-2 Dual ISH DNA Probe Cocktail	FISH
		Herceptin	Ventana Medical system (Roche Group)	HER2 FISH PharmDX kit	CISH
				Pathway anti-HER-2/neu Rabbit Monoclonal Primary Antibody	FISH
				Life Technology Spot light HER2 CISH kit	CISH
Dako (Agilent)	HER2 CISH PharmDx kit	CISH			
비소세포 폐암	ALK	Xalkori	Abbott Laboratories	Vysis ALK Break Apart FISH	FISH

4. 차세대염기서열분석(NGS)의 적용방법

DNA를 무작위로 잘라 조각을 낸 후 단일가닥으로 만든 다음 PCR처럼 시발체를 붙이고 증합효소로 상보적인 염기를 붙여 나갈 때 형광 색소(fluorescence dye)가 붙어 있는 ddNTP를 붙여 증합반응을 유도하는 시퀀싱(sequencing)을 생어 시퀀싱(Sanger Sequencing) 하며 소위 1세대 시퀀싱이라 부른다. 2세대 시퀀싱인 NGS는 생어 시퀀싱과 원리는 비슷하지만[22], ‘대규모 병렬형 염기서열 분석법’으로 하나의 유전체를 여러 조각으로 잘라서 각 조각을 동시에 읽은 뒤, 각각의 데이

터를 생물정보학적 기법을 이용하여 유전체 정보를 빠르게 해독할 수 있다. NGS 기법으로 동반진단제 승인 받은 경우는 유전자 패널분석을 이용하여 한 번에 324 개 유전자의 변이(유전자 삽입결실, 유전자 복제 및 변이, 유전자 대체 등)를 동시에 검사할 수 있는 암 유전자 진단기기로 FoundationOne CDx(이하 FICDx)가 2017년 12월에 의료기기로서의 인증과 동시에 보험 급여 항목 등재되었다.

IV. 논의 및 결론

1. 연구요약

항암치료 시 약제의 고비용과 약물반응의 저효율 문제를 극복하기 위해서 개인의 유전자 특성에 기초하여 최대의 치료효과와 최소의 부작용이 기대되는 최적의 치료법을 선정하는 것을 ‘맞춤의학’이라 한다. 맞춤의학의 관점에서 볼 때 ‘신약개발의 성공률은 높이면서 의약품 무반응률은 낮출 수 있는’ 동반진단제 기반 항암제 개발이 증가하는 것은 분자진단 기술의 발전과 더불어 생물공학기술의 발달로 새로운 바이오 마커의 발굴이 가능해졌기 때문이며 이를 표적으로 하는 ‘약물’과 약물반응성이 높은 환자를 선별할 수 있는 분자진단 기법의 IVD 개발이 병행되었기 때문이다.

2. 시사점

악성 고형암의 항암제 동반진단 기술에서 분자진단 기술의 적용의 시사점은 다음과 같다. 첫째, 현재까지의 동반진단제 개발과정을 살펴보면, 동반진단제형 신약 개발의 경우 초기단계부터 신약의 약리기전을 정확히 규명할 필요가 있다. 이때 약물의 기전은 정상세포에서는 발동하지 않으면서 암세포만 특이적으로 목표해야 한다. 즉, 약물에 의한 정상세포의 손상을 최소화하면서 선택적으로 암세포만 사멸시켜 부작용을 최소화하는 항암 물질일 때 동반진단제 개발의 성공률을 높일 수 있다[23]. 둘째, 동반진단제의 신약개발은 생명공학기술(biotechnology, 이하 BT) 중에서도 특히 분자진단기술과 함께 개발되어야 한다. 제약과 BT의 융합은 외관

상 신약개발 과정이 좀 더 복잡해졌다고 볼 수 있지만, 장기적인 관점에서 신약개발의 성공률은 높일 수 있는 좋은 방법이다. 최근에는 나노융합기술과 미세유체 제어 기술, 항체 기술 등 다양한 첨단 기술들이 도입하여 새로운 형태의 동반진단제 개발이 시도되고 있다[24]. 셋째, 약물기전에 바탕을 둔 동반진단제의 개발이 필요하다. 동반진단의 결과가 항암제를 쓰는 진단의 근거가 되어야 하며, 약물에 대한 환자의 반응율과도 상관관계를 가져야한다[24].

상기 3가지 방법을 환자의 병리적 상태에 따른 적합한 치료제 선택을 가능케 하고 이를 통해 치료 성공률을 높일 수 있다. 또한 기업은 보다 계획적인 신약개발로 비용절감 및 신약의 승인기간 감축을 기대할 수 있다. 또한 국가적으로는 불필요한 치료비용과 진단비용을 줄임으로써 보건·경제적으로 의료비 감축을 기대할 수 있다.

3. 한계 및 향후 연구과제

동반진단제 개발에서 핵심요소로 대두되는 분자진단 기술의 기술적 한계 및 동반진단제 사용에 대한 사회적 한계는 다음과 같다.

첫째, BT 기술의 발달로 인한 새로운 분자진단기술의 증가하여 개발시점에 사용한 동반진단법이 약물개발이 완료된 시점에도 암종을 동정(同定, identification) 하는데 가장 적절한 검사인지 검토해야한다. 신약개발에 최소 십여년이 소요되고 수십~수백억원의 개발비를 감안한다면 진단법 탐색이 보수적으로 바뀌는 경향 때문에 세계적 진단 기법의 트렌드를 읽고 민감도와 특이도가 높으면서 재현성이 뛰어난 최신 유전자 검사기법의 적용이 기술적으로 쉽지 않다.

둘째, 치료제-진단제는 서로 상이한 영역이며 진단과 치료 각 영역에서 공통적으로 적용할 바이오마커 개발 및 검증이 꼭 필요하지만 양쪽 영역에서 모두 인정할 수 있는 목표 마커를 선정하기가 어렵다. 제약과 진단이라는 상이한 두 분야가 접목되면서 겪는 시행착오가 존재할 수 있고 기존의 치료제 개발 프로세스로 해결되지 않는 규제적 제도마련이 필요하다.

셋째, 바이오마커 개발의 기술적 한계이다. 인간게놈

프로젝트 결과가 나오기 시작한 2000년을 기점으로 새로운 바이오 마커를 이용한 진단제의 개발 가능성을 제시하는 연구가 증가했다. 특히 오믹스(-omics) 분야에서 고속분석법이 개발되면서 진단과 진료에 사용이 가능한 바이오마커 후보들이 대거 등장했다. 그러나 대량의 바이오마커 정보에도 불구하고 바이오마커가 병원 현장에서 인정되고 사용되는 경우가 극히 드물다. 그리고 바이오마커와 관련하여 출판된 논문 대비 특허출원까지 이어진 경우의 수는 매우 미미하며 개발까지 가는 경우가 거의 없다.

넷째, 동반진단제는 공공보험으로 급여항목 등재가 되지 않으면 고비용의 약값과 진단비용으로 국민 대다수가 혜택을 받기 어렵기 때문에 공공보험의 급여책정이 필수적이다. 동반진단제가 공공보험에서 급여를 적용받으면 환자의 본인 부담금이 축소될 것이며, 국가에서 보험 급여 서비스를 제공으로 인해 병원에서 동반진단제를 선택할 가능성이 높아진다.

종합하여, 동반진단제는 종양에 대한 선별 검사(screening test)가 가능하며 치료 시 환자의 고통 및 비용 부담을 감소시킬 수 있고, 공공 보건의료비의 재정 부담을 감소시킬 수 있을 뿐만 아니라 환자의 치료 방향을 명확히 제시하여 치료비용 감소 및 삶의 질 향상에도 기여할 수 있다. 현재 동반진단제로 개발 중인 치료제의 경우 허가시점에 맞춰 분자진단기술을 선택해야하며, 진단제에 대한 명확한 기전이해와 함께 치료기술과 진단기술의 융합이 기술적으로 필요하다. 더불어 동반진단제에 대한 공공보험의 급여책정이 필요함을 제언한다. 작금의 세계 항암제 시장은 세포독성 항암제에서 표적치료제로 이동하고 있는 시기이다. 요컨대, 국내 보건의료 및 제·약학 연구 분야 역시 동반진단제를 포함한 표적치료제의 개발을 모색하지 않으면 세계 제약 시장에서 낙오될 수 있으므로 이 분야의 연구개발을 통해 세계 제약 시장에서 경쟁력을 확보하고 시장에 진입의 발판으로 삼아야 한다.

참 고 문 헌

- [1] P. Rubin and G. Casarett, "Microcirculation of tumors. I. Anatomy, function, and necrosis," *Clin Radiol*, Vol.17, pp.220-229, 1966.
- [2] R. K. Jain, "Determinants of tumor blood flow: a review," *Cancer Res*, Vol.48, pp.2641-2658, 1988.
- [3] W. H. Clark, "Tumour progression and the nature of cancer," *Br. J. Cancer*, Vol.64, No.4, pp.631-644, 1991.
- [4] B. A. Chabner and T. G. Roberts, "Timeline: Chemotherapy and the war on cancer," *Nature reviews cancer*, Vol.5, No.1, pp.65-72, 2005.
- [5] P. Bumming, J. Andersson, J. M. Meis-Kindblom, H. Klingenstierna, K. Engstrom, U. Stierner, B. Wangberg, S. Jansson, H. Ahlman, L. G. Kindblom, and B. Nilsson, "Neoadjuvant, adjuvant and palliative treatment of gastrointestinal stromal tumours (GIST) with imatinib: a centre-based study of 17 patients," *British journal of cancer*, Vol.89, No.3, pp.460-464, 2003.
- [6] A. G. Hall and M. J. Tilby "Mechanisms of action of, and modes of resistance to, alkylating agents used in the treatment of haematological malignancies," *Blood review*, Vol.6, No.3, pp.163-173, 1992.
- [7] J. Bardy, N. J. Slevin, K. L. Mais, and A. Molassiotis, "A systematic review of honey uses and its potential value within oncology care," *Journal of Clinical Nursing*, Vol.17, No.9, pp.2661-2664, 2008.
- [8] T. A. Baudino, "Targeted Cancer Therapy: The Next Generation of Cancer Treatment. Current drug discovery technologies," *Current drug discovery technologies*, Vol.12, No.1, pp.3-20, 2001.
- [9] M. Jamal-Hanjani, A. Hackshaw, Y. Ngai, J. Shaw, C. Dive, and S. Quezada, "Tracking genomic cancer evolution for precision medicine: the lung TRACERx study," *PLoS Biol*, Vol.12, p.e1001906, 2014.
- [10] M. Gozner, "Drug approvals 2011: focus on companion diagnostics," *Journal of the National Cancer Institute*, Vol.104, No.2, pp.84-86, 2012.
- [11] National Evidence-based healthcare Collaborating Agency, *Development of Guidelines for New Health Technology Assessment*, 2014.
- [12] National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, *Review guidelines for Market Authorization (IVD Companion Diagnostics). Cheongju: National Institute of Food and Drug Safety Evaluation*, 2015.
- [13] C. S. Karapetis, S. Khambata-Ford, D. J. Jonker, C. J. O'Callaghan, D. Tu, N. C. Tebbutt, R. J. Simes, H. Chalchal, J. D. Shapiro, S. Robitaille, T. J. Price, L. Shepherd, H. J. Au, C. Langer, M. J. Moore, and J. R. Zalberg, "K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer," *N Engl J Med*, Vol.359, No.17, pp.1757-1765, 2008.
- [14] B. J. Solomon, T. Mok, D. W. Kim, Y. L. Wu, K. Nakagawa, T. Mekhail, E. Felip, F. Cappuzzo, J. Paolini, T. Usari, S. Iyer, A. Reisman, K. D. Wilner, J. Tursi, and F. Blackhall, "First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer," *N Engl J Med*, Vol.371, No.23, pp.2167-2177, 2014.
- [15] T. W. Jacobs, A. M. Gown, H. Yaziji, M. J. Barnes, and S. J. Schnitt, "Specificity of HercepTest in determining HER-2/neu status of breast cancers using the United States Food and Drug Administration-approved scoring system," *J Clin Oncol*, Vol.7, No.7, pp.1983-1987,

- 1999.
- [16] A. Agarwal, D. Ressler, and G. Snyder, "The current and future state of companion diagnostics," *Pharmgenomics Pers Med*, Vol.31, No.87, pp.99-110, 2015.
- [17] 신영기, "표적항암제 동반진단키트의 현재와 전망," *생명공학정책연구*, Vol.4, 2014.
- [18] M. S. Tsao, A. Sakurada, J. C. Cutz, C. Q. Zhu, S. Kamel-Reid, J. Squire, I. Lorimer, T. Zhang, N. Liu, M. Daneshmand, P. Marrano, G. da Cunha Santos, A. Lagarde, F. Richardson, L. Seymour, M. Whitehead, K. Ding, J. Pater, and F. A. Shepherd, "Erlotinib in lung cancer—molecular and clinical predictors of outcome," *N Engl J Med*, Vol.353, No.2, pp.133-144, 2005.
- [19] M. Reck, D. Rodriguez-Abreu, A. G. Robinson, R. Hui, T. Csósz, A. Fulop, M. Gottfried, N. Peled, A. Tafreshi, S. Cuffe, M. O'Brien, S. Rao, K. Hotta, M. A. Leiby, G. M. Lubiniecki, Y. Shentu, R. Rangwala, and J. R. Brahmer, "Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer," *N Engl J Med*, Vol.375, No.19, pp.1823-1833, 2016.
- [20] Ryan Bishop, "Applications of fluorescence in situ hybridization (FISH) in detecting genetic aberrations of medical significance," *Bioscience Horizons*, Vol.3, No.1, pp.85-95, 2010.
- [21] A. Agarwal, D. Ressler, and G. Snyder, "The current and future state of companion diagnostics," *Pharmgenomics Pers Med*, Vol.8, pp.99-110, 2015.
- [22] S. A. Hardwick, I. W. Deveson, and T. R. Mercer, "Reference standards for next-generation sequencing," *Nat Rev Genet*, Vol.18, No.8, pp.1473-484, 2017.
- [23] S. A. Waldman and A. Terzic, "Companion diagnostics at the intersection of personalized medicine and healthcare delivery," *Biomark Med*, Vol.9, No.1, pp.1-3, 2015.
- [24] E. Faulkner, L. Annemans, L. Garrison, M. Helfand, A. P. Holtorf, J. Hornberger, D. Hughes, T. Li, D. Malone, K. Payne, U. Siebert, A. Towse, D. Veenstra, and J. Watkins, "Challenges in the development and reimbursement of personalized medicine—payer and manufacturer perspectives and implications for health economics and outcomes research: a report of The ISPOR Personalized Medicine Special Interest Group," *Value Health*, Vol.15, pp.1162-1171, 2012.

저 자 소 개

김진희(Jin-Hee Kim)

정희원



- 2010년 8월 : 서울대학교 의과대학(의학석사)
- 2013년 8월 : 서울대학교 의과대학(의학박사)
- 2015년 2월 : 서울대학교 의과대학 선임연구원
- 2015년 3월 ~ 현재 : 청주대학교 보건의료대학 조교수
<관심분야> : 보건의료교육, 동반진단제, 종양학, 줄기세포