

진행성 고형암에서
차세대 염기서열분석의 임상적 이용과
분자종양보드 운용에 관한 진료권고안

대한종양내과학회-대한항암요법연구회
암정밀의료 네트워크 그룹

암정밀의료 진료권고안 위원회

- 위원장: **김지현** (서울의대/분당서울대학교병원/혈액종양내과)
- 간사: **윤신교** (울산대학교/서울아산병원/종양내과)

1. 집필위원회

위원(가나다순)

김미소 (서울의대/서울대학교병원/혈액종양내과)	김승태 (성균관대학교/삼성서울병원/혈액종양내과)
김한상 (연세대학교/연세암병원/종양내과)	김지훈 (울산대학교/서울아산병원/병리과)
윤홍석 (서울대학교병원/임상유전체의학과)	홍용상 (울산대학교/서울아산병원/종양내과)

2. 개발위원회

위원(가나다순)

김인호 (가톨릭대학교 서울성모병원/혈액종양내과)	김진원 (분당서울대학교병원/혈액종양내과)
김효송 (연세대학교 연세암병원/종양내과)	박인근 (가천대학교 길병원/종양내과)
안희경 (가천대학교 길병원/종양내과)	유창훈 (울산대학교 서울아산병원/종양내과)
윤진아 (순천향대학교 부천병원/종양혈액내과)	이인희 (경북대학교병원/혈액종양내과)
임선민 (연세대학교 연세암병원/종양내과)	정재호 (울산대학교 서울아산병원/종양내과)
차용준 (국립암센터/대장암센터)	천재경 (차의과대학교 분당차병원/혈액종양내과)

3. 검토위원회

강진형 (가톨릭대학교 서울성모병원/혈액종양내과)	김태원 (울산대학교 서울아산병원/종양내과)
장대영 (한림대학교 성심병원/혈액종양내과)	장세진 (울산대학교 서울아산병원/병리과)

차 례

1. 서론	4page
2. 방법	5page
2.1 차세대 염기서열분석 기반 유전자 패널검사를 위한 검체 획득 시 고려할 점은 무엇인가?	6page
2.2 한국에서 적용 가능한 표적 유전자의 근거수준에 따른 임상적 유용성을 어떻게 분류하는가?	8page
2.3 차세대 염기서열분석 기반 유전자 패널검사 결과 해석 시 고려할 사항은 무엇인가?	11page
2.4 분자종양보드는 어떻게 운용되는가?	14page
2.5 정밀의료 구현을 위하여 실제 임상에서 차세대 염기서열분석 기반 유전자 패널검사 결과는 어떻게 적용되어야 하는가?	16page
3. 결론	18page

1. 서론

최근 차세대 염기서열분석기술(next generation sequencing, NGS)의 발전과 함께 유전체분석에 소요되는 비용이 크게 낮아지면서[1-4] 수백개의 유전자를 빠르게 분석하여 종양을 유발하는 표적유전자를 확인하는 것이 가능해졌다[5]. 이러한 NGS의 기술과 비용효과성의 개선은 NGS가 고형암 환자의 정밀의료에 있어 표준 진료영역으로 자리매김 하는 계기가 되었다[1]. 한국에서는 2017년부터 NGS 기반 유전자 패널검사가 건강보험 선별급여항목으로 지정되어 임상에서 이용되기 시작했고, 고형암 환자에서 시행건수는 2017년 연간 4,000건에서 2019년 연간 10,000건으로 증가되었다[6]. NGS 기반 유전자 패널검사가 실제 임상에서 적용되는 과정은 다음과 같다; (1) 고형암 환자로부터 종양조직 또는 혈장을 얻고 (2) 염기서열분석을 위해 핵산(DNA 또는 RNA)을 추출하고 (3) 종양 유전변이를 확인하고 결과보고서를 작성하며 (4) 분자종양보드를 통해 근거에 기반한 맞춤치료를 제공하게 된다.

정밀의학이 진료영역에 빠른 속도로 도입됨에 따라 2019년 고형암 환자의 생존 성적 향상을 목표로 대한종양내과학회(Korean Society of Medical Oncology (KSMO))와 대한항암요법연구회(Korean Cancer Study Group (KCSG))는 암정밀의료 네트워크 그룹(Korean Precision Medicine Networking Group (KPMNG))을 발족하였다. 최근 서구에서 NGS 결과의 임상적용과 분자종양보드 운영에 대한 진료지침을 개발하여 발표하였으나, 이는 한국의 의학적, 사회적 특수성을 반영하지 못하여 적용에 제약이 있었다.

금번 진료권고안은 국내에서 NGS 기반 유전자 패널검사를 처방하고 결과를 보고받아 실제 고형암 환자의 치료에 적용하는 임상 의사의 입장에서 전문가 권고안이다. 본 진료권고안의 목적은 아래와 같다; (1) 진료권고안 개발 과정을 통해 전문가 간의 의학 지식 및 경험을 공유하는 기회를 제공하고, (2) 실제 진료를 담당하는 종양내과 전문의 입장에서 NGS 기반 유전자 패널검사를 수행하고, 결과를

해석하여 적절한 치료제를 찾는 전 과정에 대한 이해를 높이고, 또한 (3) 최선의 치료약제를 결정하기 위해 다학제적 접근을 통한 효과적인 분자종양보드의 운용을 제안하기 위함이다.

2. 방법

본 진료권고안 편찬을 위한 위원회는 2020년 11월 발족되었고, 실제 고형암 환자를 진료하는 대한종양내과학회 산하 암정밀의료 네트워크 그룹에서 활동하는 종양내과 분과전문의 및 대한병리학회가 추천한 병리전문의, 그리고 생명정보학 전문가로 이루어진 집필위원회와 대한항암요법연구회 8개 암종의 질병분과 추천위원으로 구성된 개발위원회, 대한종양내과학회와 대한항암요법연구회, 대한병리학회 회장단으로 구성된 검토위원회로 구성되었다. 집필위원회와 개발위원회는 2020년부터 2021년까지 총 2차례의 워크숍을 통해 충분한 토의과정을 거쳐 본 진료권고안에서 다룰 핵심질문을 도출하였고, 각 위원회 구성원을 대상으로 두 차례의 온라인 설문조사를 시행하여 총 6가지의 핵심질문을 최종 선정하였다. 진료권고안에서 다룰 핵심 질문 6가지는 고형암 환자에서 NGS 기반 유전자 패널검사의 시행과 해석, 분자종양보드의 운용의 실제, NGS 기반 유전자 패널검사 결과를 보고받은 후 환자에게 맞춤치료를 제안하는 과정, 암종별로 NGS 기반 유전자 패널검사 시행이 권고되는 시점과 치료 가능한 표적유전자 (actionable genes)의 목록을 포함하기로 하였다. 최종 선정된 핵심질문에 대한 권고안은 2021년 5월 개최된 대한종양내과학회에서 국내실정을 반영하기 위해 충분한 논의과정을 거친 후 집필위원회에 의해 집필되었다. 집필위원회에서 작성한 권고안은 대한종양내과학회와 대한항암요법연구회 검토위원회에서 상호 검증을 통하여 검토하였다. 6가지 핵심질문 중 암종별 NGS 기반 유전자 패널검사

시행이 권고되는 시점과 치료가능한 표적유전자(actionable genes)의 목록은 추후 따로 발간할 예정이다.

도출된 핵심질문은 표 1. 에 정리되어 있다.

표 1. 핵심질문

핵심 질문

암종별로 차세대 염기서열분석 기반 유전자 패널검사가 필요한 적절한 시점은 언제인가? ^{a)}

차세대 염기서열분석 기반 유전자 패널검사를 위한 검체 획득 시 고려할 점은 무엇인가?

한국에서 적용 가능한 암종별 표적유전자는 무엇이고, 근거수준에 따른 임상적 유용성을 어떻게 분류하는가? ^{a)}

차세대 염기서열분석 기반 유전자 패널검사 결과 해석 시 고려할 사항은 무엇인가?

분자종양보드는 어떻게 운용되는가?

정밀의료 구현을 위하여 실제 임상에서 차세대 염기서열분석 기반 유전자 패널검사 결과는 어떻게 적용되어야 하는가?

^{a)} 향후 따로 구별하여 발간할 예정

2.1 차세대 염기서열분석 기반 유전자 패널검사를 위한 검체 획득 시 고려할 점은 무엇인가?

DNA 분리 단계 전에 DNA 추출을 어느 곳(target area)에서 할 것인가를 결정하는 것은 병리과 의사 입장에서는 상당히 중요하고, 종양세포가 농축되어 있는 적절한 관심영역(region of interest, ROI)을 설정하는 것이 필수적이다. 권장되는 종양세포 분율을 충족하지 못한 곳에서 DNA 가 추출된다면 위음성의 결과값을 얻게 될 가능성이 있다. 만일 대장암에서 APC 변이와 같이 흔히 발견되는 변이가 확인되지 않았다면 종양세포 분율이 너무 낮은 곳에서 DNA 가 추출된 것이 아닌지를 의심해야 한다.

또한 혼입된 정상세포의 이배체 유전자(diploid genomes)에 의해 증폭신호가 희석될 가능성이 있으므로, 복제수변이 결과를 해석할 때는 DNA 가 추출된 관심영역에서 정상세포 대비 종양세포의 분율을 함께 고려하여 판단하는 것이 필수적이다.

원발병소와 전이/재발병소 조직을 가지고 NGS 검사를 시행할 때 어떤 조직으로 NGS 를 시행할지를 결정한다면 다음 사항에 대하여 고려할 것을 권장한다. 만일 전신 항암치료를 시행하기 전이라면 이 두 조직은 핵심 종양관련 유전변이를 상당 부분 공유하는 것으로 알려져 있다[7-9]. 하지만 재발된 종양조직 또는 전이상태에서 진단된 이후 질병진행이 되는 종양조직에서 발생가능한 유전학적 진화(genomic evolution)는 비록 이러한 진화가 대부분 일과성(passenger) 변이라 할지라도[10], 일부변이는 억제 내성 또는 예후 예측인자와 관련이 있을 수 있다는 점을 간과해서는 안된다. 이러한 이유로 재발 종양 조직에서 최근에 얻어진 조직이 NGS 시행 시점의 종양의 유전학적인 특성을 더 잘 반영할 것이라 추정할 수 있다. 하지만 만일 임상적으로 재발/전이된 종양조직을 얻기 어려운 경우라면 원발 병소도 NGS 검사에 이용될 수 있다.

종양 순도(tumor purity)는 종양 검체에서 종양세포의 비율을 의미하는데, 낮은 종양 순도는 위음성 결과로 이어질 수 있기 때문에 종양순도는 NGS 검사의 신뢰도(reliability)에 영향을 미치는 중요한 요소이다. NGS 에 적합한 검체의 중요한 요건은 생검조직과 수술조직 공히 높은 종양순도이고, 통상 좀더 높은 종양순도를 보이는 수술조직이 선호된다. 하지만, 수술조직이라고 하여도 수술 전 보조항암치료가 시행된 경우에는 생존종양세포(viable tumor cells)비율이 매우 낮을 수 있기 때문에 생존종양세포(viable tumor cells)가 얼마나 되는지가 꼭 고려되어야 한다. 종양순도의 최소한의 요구치는 NGS 분석 방법과 기술적 민감도에 따라 달라지지만, 핵산과 종양세포의 함량이 높을수록 위음성의 가능성을 낮출 수

있다는 것을 유념해야 한다. 경화된 조직(sclerotic tissue)이나 낭성종양(cystic tumor)은 종양세포 함량이 적고, 괴사된 조직의 경우 핵산의 함량이 낮아질 수 있다는 점도 고려해야 한다. NGS 검사의 최소 DNA 요구치는 교잡포획(hybrid capture)방법의 경우 최소 100 ng, 앰플리콘(amplicon) 방법의 경우 최소 10 ng 이다. 교잡포획(hybrid capture)방법은 최소 1 mm²의 종양조직을 필요로 하고, 이를 위해서는 3 조각의 지름 2 mm 이상 생검 조직 또는 수술 조직 비염색 슬라이드 2 장이 필요하다[11]. 그러나 검체의 질에 따라 추가 검체가 필요해질 가능성이 있기 때문에 최소 요구치의 1.5 배 정도의 비염색슬라이드를 요청하는 것이 가장 이상적이다(생검조직 슬라이드 10 장, 수술조직 슬라이드 5 장). 이러한 기준은 모두 참고를 위한 기준으로 NGS 검사를 수행하는 기관의 경험에 따라 검체 요구치에 대한 기준을 마련하는 것이 중요하다.

조직을 고정하고 보관하는 것은 NGS 검사에 적합한 이상적인 검체의 질을 유지하는 데에 있어서 결정적 요소이다. 특히 검체 획득 후 고정까지 지연되었거나 조직 고정이 불충분한 경우에는 DNA 가 분해될 수 있으므로 유의해야 한다[12]. 따라서 조직 획득 1 시간 이내에 충분한 양의 포르말린에 잘 고정되도록 하는 것이 중요하다. 만일 수술 검체가 불충분한 고정으로 인해 사용이 어렵다면 오히려 수술 전 획득한 생검 조직을 이용하여 NGS 검사를 시행하는 것을 고려해볼 수도 있다. 보관기간이 오래된 포르말린 고정 파라핀 포매 검체를 이용하는 경우 사이토신의 탈아미노반응(deamination) (C:G > T:A 변이)에 의해 배경 노이즈(background noise)가 생길 수 있음을 분석 시 유념해야 할 필요가 있다 [13,14].

혈액을 이용한 액체 생검은 비침습적 유전자 분석 방법으로 진료영역에 이미 도입되어 이용되고 있다. 실제 임상에서 액체 생검은 치료 반응을 모니터링하고 약제 내성 기전을 밝히며, 재발을 조기에 확인하고, 기존 종양조직 NGS 검사의 한계였던 종양 내 이질성을 극복하는 분야에서 활용되고 있다[15].

2.2 한국에서 적용 가능한 표적 유전자의 근거수준에 따른 임상적 유용성을 어떻게 분류하는가?

NGS 로 확인된 종양 유전 변이는 임상적 유용성에 따라 등급을 나누어 치료에 적용하게 된다. 이 유전변이의 임상적 유용성에 대한 등급 기준은 이미 여러 나라에서 보고한 바 있으나[16,17], 국내 실정에 맞는 종양 유전자의 임상적 유용성에 대한 기준의 필요성이 대두되었다. 따라서, 본 진료권고안에서는 기존의 유전자 등급기준을 참고하고 국내적용 가능성을 고려하여 분자표적의 임상적 유용성에 따른 등급표(KPMNG scale of Clinical Actionability of molecular Targets (K-CAT))을 제시하고자 한다(표 2). K-CAT 에 근거하여 1 등급으로 분류된 유전자는 해당 유전자의 변이를 표적으로 하는 항암제를 대상으로 전향적 무작위 3 상 연구에서 우월한 생존성적이 확인된 경우로 정의하였다. 이러한 임상연구를 근거로 하여 해당 유전자의 변이를 표적으로 하는 항암제는 국제적인 표준치료로 인정되고, 대한민국 식품의약품 안전처 또는 미국 식약처 (U.S. Food and Drug Administration) 또는 유럽 의약품청(European Medicines Agency)의 허가를 받게 된다. 이러한 경우 해당 항암제는 국내에서는 건강보험 급여 등재 대상으로 고려될 것이 권고된다. 2 등급 유전자는 해당 유전자의 변이를 표적으로 하는 항암제를 대상으로 한 전향적 1 상 또는 2 상 연구에서 임상적 우월성이 확인된 경우로 정의하였다. 이러한 경우 해당 약제는 식품의약품 안전처로부터 사용 승인이 권고되고, 사용승인이 되기 전이라면 건강보험심사평가원으로부터 허가/신고 범위 초과 약제로 승인받아 사용을 고려할 수 있다. 3 등급 유전자는 후향적 연구에서 해당 암종 또는 타암종에서 유전자의 변이를 표적으로 하는 항암제의 잠정적 생존성적의 이득을 확인한 경우로 정의한다. 종양내과 전문의는 3 등급 유전자를 보고받은 경우 임상연구 참여 또는 식품의약품안전처에 임상시험용 의약품의 치료목적 사용승인(Expanded Access Program)을

신청을 고려할 수 있다. 4 등급으로 분류된 유전자는 실험실에서 해당 유전자의 변이를 표적으로 하는 항암제의 치료제로서의 가능성이 확인되었으나 아직 임상에서 치료제로서의 데이터는 부족한 경우로 정의된다. G 등급으로 분류된 유전자는 치료로 이어질 가능성이 높은 배선변이(germline variant)로 정의되며, 해당 환자에게는 배선변이에 대한 추가 검사와 유전상담이 권장된다. R 등급 유전자는 항암제의 약제 내성과 관련된 유전자이고, 이러한 약제 내성 유전자도 항암제의 국내 식품의약품 안전처의 항암제 승인과 건강보험 급여 등재 조건으로 고려될 수 있다.

표 2. 분자표적의 임상적 유용성에 따른 등급표(KPMNG scale of clinical actionability of molecular target (K-CAT))

등급	임상적 유용성	근거수준
1	승인된 표준치료제가 있는 변이	식품의약품안전처, 미국 식약처, 유럽 의약품청 혹은 이에 동등한 규제기관의 약품허가 또는 전향적 무작위 3상 임상연구에서 생존성적의 우월성이 입증된 경우
2	고려해야할 치료제가 있는 변이	전향적 1/2 상 연구에서 임상적 이득이 확인된 경우
3	임상연구 참여를 고려할 수 있는 변이	A: 해당 암종에서 시행된 후향적 연구에서 항암제의 잠정적 임상적 이득이 확인된 경우
		B: 타암종에서 시행된 후향적 연구에서 항암제의 잠정적 임상적 이득이 확인된 경우
4	전임상 연구에서 치료적 가능성을 보이는 변이	전임상 연구에서 잠재적 이득을 보였으나, 임상 데이터는 부족한 경우
G	치료적 가능성이 있는 배선변이	종양조직 NGS 에서 배선변이의 가능성이 의심되는 경우
R	약제 내성 변이	식품의약품안전처, 미국 식약처, 유럽 의약품청 등의 승인을 받은 약제 내성 유전자 변이

K-CAT 은 국내 사정을 감안하여 NGS 결과를 치료에 적용하고자 제안된 등급 기준이다. 유전자의 등급 분류는 전향적 임상연구 여부, 식품의약품 안전처의 승인 여부, 생존성적의 임상적 이득의 정도, 타 암종에서의 임상 성적, 그리고 전임상 데이터에 근거하여 결정된다. 표 3 에서는 기존의 유전자 등급기준과 K-CAT 에 적용된 기준을 정리하였다. 추후 발간될 KPMNG 진료권고안에서는 각각의 암종별 K-CAT 유전자 분류를 정리하여 제시할 예정이다.

표 3. OncoKB, ESCAT, K-CAT 기준비교

	OncoKB	ESCAT	K-CAT
전향적 무작위 임상연구	N/A	O	O
MFDS 또는 FDA 또는 EMA 승인	O	N/A	O
생존성적 우월성의 정도(magnitude)	N/A	O	N/A
타암종 성적	N/A	O	O
전임상 데이터	O	O	O

EMA, 유럽 의약품청, European Medicines Agency; ESCAT, European Society for Medical Oncology Scale for Clinical Actionability of molecular Targets; FDA, 미국 식약처, U.S. Food and Drug Administration; K-CAT, Korean Precision Medicine Networking Group scale of Clinical Actionability of molecular Targets; MFDS, 식품의약품 안전처, Ministry of Food and Drug Safety; N/A, not applicable

2.3 차세대 염기서열분석 기반 유전자 패널검사 결과 해석 시 고려할 사항은 무엇인가?

국내에서 제공되는 NGS 패널 서비스의 경우 기관별로 서로 다른 환경을 가지고 있다. 따라서 기관별로 상이한 시퀀서 (Illumina NextSeqDX, ThermoFisher Ion S5), 패널의 chemistry (amplicon, hybrid), 검사 범위 (패널에 포함된 유전자 수, 변이 종류), 변이의 검출 조건에 의해 경계 조건(boundary condition)에서는 검출 결과가 달라질 수 있는 점을 고려해야 하고, 특히 기관 사이의 결과 비교와 해석 시에는 주의가 필요하다.

결과값이 영향을 줄 수 있는 다른 요소로는 검체의 획득부터 분석 단계까지의 과정이다[18]. 검체의 양과 품질, 라이브러리 준비 과정, 시퀀스 리드 정렬(alignment)과 분석 소프트웨어에서 발생할 수 있는 다양한 변수는 결과 값에 위양성을 유발하게 된다. 이러한 위양성은 최종 결과 보고 전 최대한 제거되지만 판단이 어려운 경우 의미가 불확실한 변이(variant of unknown significance)로 보고될 수 있어 해석 시 주의를 요한다.

대부분의 NGS 검사는 환자의 정상조직과 함께 시행되지 않으므로 배선변이(germline variant)와 체성변이(somatic variant)를 쉽게 구분하기 어렵고, 따라서 NGS 결과로 보고된 변이 중에는 잠재적 배선변이(germline variant)가 포함될 가능성이 존재한다. 따라서, 의미 있는 배선변이(germline variant)가 의심되는 경우에는 정상 조직 또는 혈액 검체를 이용한 배선변이(germline variant) 여부 확인과 적절한 유전상담이 제공되어야 할 것이다.

일반적으로는 대립유전자 빈도(variant allele frequency, VAF) 3~5% 수준을 검출한계(limit of detection, LOD)로 적용한다[18]. 하지만 이러한 검출한계를 일괄적으로 적용한다면 종양 순도(tumor purity)가 낮을

경우 검출한계 이하, 즉, 1~2%밖에 되지 않는 종양원성 변이(oncogenic variant)를 놓칠 위험이 있기 때문에 종양 순도(tumor purity)를 고려하여 NGS 결과를 해석하고 결과를 보고하는 것이 중요하다.

융합(fusion) 변이는 암 진단, 환자 예후 및 표적치료를 위한 중요한 표적유전자로, 대부분의 브레이크 포인트(breakpoint)는 유전자의 인트론(intron) 영역에서 발생한다. 따라서 이의 정확한 검출을 위하여 패널을 설계할 때 인트론(intron)을 포함한 유전자의 모든 부위 혹은 브레이크 포인트(breakpoint)가 가장 빈번하게 일어나는 인트론(intron) 지역들을 적절하게 포함시켜야 한다. 다만, 인트론(intron) 지역은 repeat sequence 등 여러 제약들로 인하여 커버되지 않는 지역이 많고, 이 지역에 브레이크 포인트(breakpoint)가 있는 경우 변이를 검출하지 못하게 된다. 이러한 단점을 극복하고자 RNA 패널을 사용할 수 있다[19].

대부분의 유전자 복제수변이(copy number variant, CNV)의 경우, 결과의 신뢰성 때문에 증폭(amplification) 혹은 동형 접합성 결실(homozygous deletion, 0 copy) 이 발생한 경우에만 보고하며, 이형 접합성 결실(heterozygous deletion, 1 copy)의 경우는 실험오차 가능성이 있어 보고하지 않는 경우가 많다. 또한, ERBB2, EGFR, MET 과 같이 증폭이 자주 발생하는 유전자와 그렇지 않은 유전자의 검출 한계치(cut-off)를 탄력적으로 적용하고, 자주 발생하는 유전자에서는 낮은 복제수일지라도 증폭이 의심되면 보고하는 경우가 있다. 이러한 경우에는 형광제자리부합법(fluorescent *in situ* hybridization, FISH)등으로 증폭여부를 재차 확인할 것이 권장된다. 유전자 복제수변이(CNV)의 경우 타겟 유전자를 커버하는 프로브(probe) 또는 앰플리콘(amplicon)의 수에 의해 영향을 받으므로 일반적으로 유전자의 핫스팟(hot spot)영역에서 단일 프로브(probe)로부터 얻어진 복제수 추정치는, 모든 엑손(exon) 영역을

포함하는 프로브(probe) 또는 앰플리콘(amplicon)으로부터 측정된 평균 추정치만큼 정확하지 않음을 유념하고 해석해야 한다.

종양 변이 부담 (tumor mutational burden, TMB)는 면역 관문 억제제 요법의 새로운 생체표지자(biomarker)로 NGS 결과값 중 중요한 부분을 차지한다[20-22]. 하지만 1Mb 당 검출된 모든 종양 돌연변이의 개수를 수치화한 값으로 보고하는데 있어 아직까지 표준화된 정의가 없다는 점에 대한 고려가 필요하다. 즉, 유전자 돌연변이가 비동의 치환 변이(non-synonymous variant)에서부터 넌센스 돌연변이(non-sense mutation), 틀이동 돌연변이(frame-shift mutation)를 전부 포함하는 경우도 존재하므로 해당 검사 패널에서 종양 변이 부담(TMB)의 정의를 반드시 확인해야 한다. 또한 암 종에 따른 종양 변이 부담(TMB)의 한계치(cut-off)가 7.4 mut/Mb 에서 20 mut/Mb 까지 다양하므로 각 암 종에 따른 적절한 한계치(cutoff)를 확인해야 한다.

TMB 와 더불어 면역 관문 억제제 요법의 또 다른 대표적인 생체표지자(biomarker)인 현미부수체 불안정성 종양 (Micro-satellite instability high tumor, MSI-H)의 경우, 이를 측정하기 위하여 BAT-25, BAT-26, D2S123, D5S346, D17S250, NR21, NR24, NR27 와 같은 다양한 표지자들을 이용한 패널별 검출 기준이 상이하므로 TMB 에서와 같이 검출 한계치를 확인해야 한다[23-26].

2.4 분자종양보드는 어떻게 운용되는가?

분자종양보드(molecular tumor board, MTB)는 종양내과 전문의, 병리과 의사, 그리고 생명정보학 전문가가 기관 내에서 NGS 결과에 대한 임상적 논의를 통해 최적의 전략을 결정하기 위해 만들어진 전문가

협의체이다[27]. 이상적인 분자종양보드의 참석자는 종양내과 전문의, 병리과 전문의, 생명정보학자, 임상 유전학자, 종양 생물학자, 그리고 임상 연구 코디네이터로 구성할 수 있겠다[28]. 하지만 현실적으로 많은 기관에서 이상적 협의체 구성으로 분자종양보드를 운영하기 어려운 경우가 많다[29]. 그러므로 각 기관에서는 최소 종양내과 전문의와 병리과 의사를 포함한 참여 가능한 전문가들로 분자종양보드를 구성하여 운용할 것을 권장한다. 만일 기관 사정상 기관내 분자종양보드의 구성이 어렵다면 온라인 플랫폼을 기반으로 하여 여러 기관의 전문가로 구성된 가상 분자종양보드가 대안이 될 수 있겠다[30,31].

분자종양보드에서는 다학제적 접근을 통해 진행성 고형암 환자의 유전자 분석 결과를 근거로 가능한 치료를 논의하게 된다. 분자종양보드에서는 1) NGS 검사의 질적 평가, 2) NGS 검사결과 보고된 임상적으로 유의한 유전자 이상소견에 대한 리뷰, 3) NGS 검사 결과를 근거로 하여 권장되는 치료에 대하여 필수적으로 논의되어야 한다[27,28]. 적절한 검체가 선택되었는지, 검체의 종양 순도는 어떠했는지, 시퀀스의 깊이(mean target depth)는 적절했는지, 검사방법은 적절했는지 여부는 NGS 검사를 질적 평가부분에서 다뤄져야 하는 중요한 항목이다. 임상적으로 의미 있는 유전자의 이상소견이 확인된 경우, 단일염기변이(single nucleotide variants)인지 유전자 복제수변이(copy number variant, CNV)인지 또는 구조적변이(structural variation)인지를 검토해야 하고, 해당 유전자 이상소견과 최신지견을 OncoKB (<https://www.oncokb.org>), CIVic (<https://civicdb.org/home>), cBioportal (<https://www.cbioportal.org/>), My Cancer Genome (<https://www.mycancergenome.org/>), Clinvar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), COSMIC (<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>)과 같은 지식 데이터베이스(knowledge database)에서 확인하도록 한다. 유전자 이상소견 외에도 현미부수체 불안정성 종양 (Micro-satellite instability high tumor, MSI-H), 억제 내성 유전자 변이, 배선 변이에 대한 논의가 이루어져야 하고, 종양 변이 부담 (tumor mutational burden, TMB) 결과도 치료약제 결정을 위해 검토되어야 한다. 이러한 논의내용을

반영하여 분자종양보드에서 최종 치료결정을 하기 전에는 환자의 전신상태와 과거 병력, 이전 치료력과 종양반응, 그리고 변이가 확인된 유전자를 표적으로 하는 표적항암제의 국내 승인 여부, 허가/신고 범위 초과 약제 승인 여부, 임상 연구 참여 가능성, 그리고 임상시험용 의약품의 치료목적 사용승인 여부를 확인해야 한다.

분자종양보드의 논의 결과는 통일되고 정형화된 보고양식으로 기록되어야 하며, 보고서에는 환자의 기본 정보, NGS 결과 해석에 대한 논의 내용, 그리고 권고된 치료 결정사항을 포함하여 기록해야 한다[27,28]. 진행성 고형암 환자의 유전 변이에 대한 맞춤형 치료를 제공하기 위한 Korea Precision Medicine Networking Group Study (KOSMOS)연구에서 진행된 온라인 플랫폼 기반 가상 분자종양보드의 보고서를 그림 1 에 제시하였다.

[KOSMOS] Molecular Tumor Board Report DD-MM-YYYY	
Writer	
Confirmer	
Participants	
Patient information	
Subject ID / Sex / Age	
Type of cancer	
Sample information	
Type of sample	<input type="checkbox"/> Tumor tissue <input type="checkbox"/> Plasma sample for circulating tumor DNA <input type="checkbox"/> Tumor tissue and white blood cells
Tumor cellularity	
Mean target depth	
Liability of result	<input type="checkbox"/> Appropriate <input type="checkbox"/> Inappropriate
Reason for inappropriateness	<input type="checkbox"/> Aged tissue <input type="checkbox"/> Low tumor cellularity <input type="checkbox"/> Others:
Actionable genetic alterations	
Actionable genetic alterations	<input type="checkbox"/> Yes: <input type="checkbox"/> No
Number of actionable genetic alterations	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> ≥3 <input type="checkbox"/> No
K-CAT classification	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3A <input type="checkbox"/> 3B <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> R-A <input type="checkbox"/> R-B
OncoKB level of evidence	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3A <input type="checkbox"/> 3B <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> R1 <input type="checkbox"/> R2 <input type="checkbox"/> Not assessable
Treatment recommendation	<input type="checkbox"/> Standard treatment <input type="checkbox"/> Off-label treatment (HIRA approved) <input type="checkbox"/> Clinical trial (clinicaltrial.gov NCT#) <input type="checkbox"/> Investigational new drug application <input type="checkbox"/> Others (palliative care, radiotherapy, etc.)
Discussion	
Evidence of treatment recommendation	
Final recommendation of treatment	

그림 1. Precision Medicine Networking Group Study (KOSMOS)연구에서 진행된 온라인 플랫폼 기반 가상 분자종양보드의 보고서

2.5 정밀의료 구현을 위하여 실제 임상에서 차세대 염기서열분석 기반 유전자 패널검사 결과는 어떻게 적용되어야 하는가?

분자종양보드에서는 NGS 결과를 토대로 가장 높은 수준의 근거를 가지는 치료 옵션을 제안하게 되고, 이때 K-CAT 의 우선순위 등급이 치료옵션을 제안의 근거가 될 수 있다. 종양내과 전문의는 분자종양보드에서 치료 옵션에 대하여 논의할 때 환자의 전신상태, 암의 종류, 질환 경과, 동반 질환, 그리고 사회경제적 요소를 함께 고려하여야 한다.

만일 분자종양보드에서 도출된 치료 결정사항이 특정 암종에서 국내 허가범위 외 약제라면 기관 내 혈액종양내과 전문의, 암 관련 수술을 하는 외과계 전문의, 방사선 종양학과 전문의로 구성된 상근 다학제 위원회를 거쳐 건강보험 심사평가원장의 승인을 받아 허가/신고 범위 초과 약제 사용을 고려할 수 있다. 건강보험 심사평가원은 허가/신고 범위 초과 약제 승인이 접수되면 접수일로부터 60 일 이내에 승인여부 및 내용을 신청기관에 통보하게 된다(승인 후 사용). 만일 건강보험 심사평가원 승인 전 신속하게 투여가 필요한 상황에서는 기관 내 다학제 위원회 심의 후 허가초과 항암제를 우선 사용하고 15 일 이내 건강보험 심사평가원에 승인 신청할 수 있다(승인 전 사용)[32].

분자종양보드에서 제안된 치료 옵션이 국내 승인 전이고 임상시험중인 약제라면 환자는 임상연구 참여 또는 임상시험용 의약품의 치료목적 사용승인 하에 약제 사용을 고려할 수 있다. 국내 진행중인 임상연구 현황은 식품의약품안전처 홈페이지(<https://nedrug.mfds.go.kr/index>), 질병관리처 산하 임상연구정보서비스 (Korea Disease Control and Prevention Agency) 홈페이지(<https://cris.nih.go.kr/cris/index/index.do>) 또는 대한항암요법연구회 홈페이지(<https://www.kcsg.org>)에서 검색이 가능하다. 임상시험용 의약품의 치료목적 사용승인제도는 더 이상 표준치료약제가 없고 임상연구 참여가 어려운 환자들에게 치료기회를 제공하는

목적으로 원칙적으로는 임상시험용으로만 사용할 수 있는 약제를 허가 전 치료 목적으로만 사용할 수 있도록 승인하는 제도이다. 적응증이 반드시 임상시험과 일치하여야 하는 것은 아니므로, 의학적 판단에 따라 해당 환자에게 임상시험용 의약품 사용이 위험보다 이익이 더 크다고 판단되고, 제약사가 임상시험용 의약품 제공 의향이 있다면 고려해 볼 수 있다. [33].

유전자 맞춤치료의 활성화를 위해서는 국내 여러 기관에서의 다학제적 접근을 통한 최적의 의사결정 경험이 축적되어야 하고, 나아가 환자와 의료진이 함께하는 의사결정으로 발전되어야 한다[34-36]. 또한 각 기관에서 시행되고 있는 NGS 결과를 아우르고, 해당 환자의 기본정보와 생존성적, 항암제에 대한 반응을 통합한 임상-유전체 통합 데이터 베이스 구축은 유전자 맞춤치료의 선순환 구조의 기틀이 될 수 있을 것으로 기대한다. [37-39]. 물론 데이터 보안과 공유 정책을 선제적으로 마련하여 통합데이터가 임상진료와 신약개발, 항암제 승인과 급여결정의 근거를 마련하는데 적절하게 이용될 수 있도록 해야 할 것이다[40].

3. 결론

NGS 는 이미 진행성 고형암 환자의 진료에 있어 필수적인 검사로 자리잡았다. 본 진료 권고안은 국내 실정을 반영한 진행성 고형암에서의 NGS 의 임상적 이용에 대한 한국형 진료 권고안으로서, 유전자의 임상적 유용성에 대한 등급기준을 제시하고, NGS 를 수행하고 결과를 해석할 때 고려할 점과 NGS 결과를 임상에 적용할 때 고려해야 할 점, 분자종양보드의 운용에 대한 의견을 제안하였다.

본 진료 권고안은 NGS 의 임상적 이용과 분자종양보드의 운용에 대하여 개발된 국내 최초의 진료

권고안이라는 점에서 의의가 있다. 하지만, 아직은 각각의 핵심질문에 대하여 제한된 근거 외에 제시할 수 있는 과학적 근거가 부족하고 여전히 전문가 의견에 근거하여 의견을 제안할 수밖에 없었던 점은 한계로 남아있다. 하지만 본 진료 권고안이 국내 진행성 고형암 환자의 맞춤치료를 정착시킬 수 있는 임상적 근거를 제공할 수 있을 것으로 기대한다.

감사의 글

본 진료권고안은 대한종양내과학회와 대한항암요법연구회, 암정밀의료 네트워크 그룹(Korean Precision Medicine Networking Group (KPMNG))을 중심으로 대한병리학회의 추천위원이 함께 작성하였다. 본 진료권고안은 보건복지부 암정복추진연구개발사업 지원으로 이루어졌다(1720150).

References

1. Collins FS, Varmus H. A new initiative on precision medicine. *N Engl J Med.* 2015;372:793-5.
2. Biankin AV, Piantadosi S, Hollingsworth SJ. Patient-centric trials for therapeutic development in precision oncology. *Nature.* 2015;526:361-70.
3. Zehir A, Benayed R, Shah RH, Syed A, Middha S, Kim HR, et al. Mutational landscape of metastatic cancer revealed from prospective clinical sequencing of 10,000 patients. *Nat Med.* 2017;23:703-13.
4. Marino P, Touzani R, Perrier L, Rouleau E, Kossi DS, Zhaomin Z, et al. Cost of cancer diagnosis using next-generation sequencing targeted gene panels in routine practice: a nationwide French study. *Eur J Hum Genet.* 2018;26:314-23.
5. Tobin NP, Foukakis T, De Petris L, Bergh J. The importance of molecular markers for diagnosis and selection of targeted treatments in patients with cancer. *J Intern Med.* 2015;278:545-70.
6. Lee SH, Lee B, Shim JH, Lee KW, Yun JW, Kim SY, et al. Landscape of Actionable Genetic Alterations Profiled from 1,071 Tumor Samples in Korean Cancer Patients. *Cancer Res Treat.* 2019;51:211-22.
7. Grellety T, Lucchesi C, Hostein I, Auzanneau C, Khalifa E, Soubeyran I, et al. High-depth sequencing of paired primary and metastatic tumours: Implications for personalised medicine. *Eur J Cancer.* 2017;84:250-6.
8. Manca A, Paliogiannis P, Colombino M, Casula M, Lissia A, Botti G, et al. Mutational concordance between primary and metastatic melanoma: a next-generation sequencing approach. *J Transl Med.* 2019;17:289.
9. Crumley SM, Pepper KL, Phan AT, Olsen RJ, Schwartz MR, Portier BP. Next-generation sequencing of matched primary and metastatic rectal adenocarcinomas demonstrates minimal mutation gain and concordance to colonic adenocarcinomas. *Arch Pathol Lab Med.* 2016;140:529-35.
10. McGranahan N, Swanton C. Biological and therapeutic impact of intratumor heterogeneity in cancer evolution. *Cancer Cell.* 2015;27:15-26.
11. Cho M, Ahn S, Hong M, Bang H, Van Vrancken M, Kim S, et al. Tissue recommendations for

- precision cancer therapy using next generation sequencing: a comprehensive single cancer center's experiences. *Oncotarget*. 2017;8:42478-86.
12. Carithers LJ, Agarwal R, Guan P, Odeh H, Sachs MC, Engel KB, et al. The biospecimen preanalytical variables program: a multiassay comparison of effects of delay to fixation and fixation duration on nucleic acid quality. *Arch Pathol Lab Med*. 2019;143:1106-18.
 13. Chen G, Mosier S, Gocke CD, Lin MT, Eshleman JR. Cytosine deamination is a major cause of baseline noise in next-generation sequencing. *Mol Diagn Ther*. 2014;18:587-93.
 14. Kim S, Park C, Ji Y, Kim DG, Bae H, van Vrancken M, et al. Deamination effects in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue samples in the era of precision medicine. *J Mol Diagn*. 2017;19:137-46.
 15. Ignatiadis M, Sledge GW, Jeffrey SS. Liquid biopsy enters the clinic: implementation issues and future challenges. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021;18:297-312.
 16. Mateo J, Chakravarty D, Dienstmann R, Jezdic S, Gonzalez-Perez A, Lopez-Bigas N, et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT). *Ann Oncol*. 2018;29:1895-902.
 17. Chakravarty D, Gao J, Phillips SM, Kundra R, Zhang H, Wang J, et al. OncoKB: A Precision Oncology Knowledge Base. *JCO Precis Oncol*. 2017;2017.
 18. Jennings LJ, Arcila ME, Corless C, Kamel-Reid S, Lubin IM, Pfeifer J, et al. Guidelines for Validation of Next-Generation Sequencing-Based Oncology Panels: A Joint Consensus Recommendation of the Association for Molecular Pathology and College of American Pathologists. *J Mol Diagn*. 2017;19:341-65.
 19. Heydt C, Wolwer CB, Velazquez Camacho O, Wagener-Ryczek S, Pappesch R, Siemanowski J, et al. Detection of gene fusions using targeted next-generation sequencing: a comparative evaluation. *BMC Med Genomics*. 2021;14:62.
 20. Strickler JH, Hanks BA, Khasraw M. Tumor Mutational Burden as a Predictor of Immunotherapy Response: Is More Always Better? *Clin Cancer Res*. 2021;27:1236-41.
 21. Marabelle A, Fakih M, Lopez J, Shah M, Shapira-Frommer R, Nakagawa K, et al. Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with

- pembrolizumab: prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study. *Lancet Oncol.* 2020;21:1353-65.
22. Fancello L, Gandini S, Pelicci PG, Mazarella L. Tumor mutational burden quantification from targeted gene panels: major advancements and challenges. *J Immunother Cancer.* 2019;7:183.
 23. Le DT, Durham JN, Smith KN, Wang H, Bartlett BR, Aulakh LK, et al. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science.* 2017;357:409-13.
 24. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med.* 2015;372:2509-20.
 25. Luchini C, Bibeau F, Ligtenberg MJL, Singh N, Nottegar A, Bosse T, et al. ESMO recommendations on microsatellite instability testing for immunotherapy in cancer, and its relationship with PD-1/PD-L1 expression and tumour mutational burden: a systematic review-based approach. *Ann Oncol.* 2019;30:1232-43.
 26. Dedeurwaerdere F, Claes KB, Van Dorpe J, Rottiers I, Van der Meulen J, Breyne J, et al. Comparison of microsatellite instability detection by immunohistochemistry and molecular techniques in colorectal and endometrial cancer. *Sci Rep.* 2021;11:12880.
 27. Luchini C, Lawlor RT, Milella M, Scarpa A. Molecular Tumor Boards in Clinical Practice. *Trends Cancer.* 2020;6:738-44.
 28. van der Velden DL, van Herpen CML, van Laarhoven HWM, Smit EF, Groen HJM, Willems SM, et al. Molecular Tumor Boards: current practice and future needs. *Ann Oncol.* 2017;28:3070-5.
 29. Larson KL, Huang B, Weiss HL, Hull P, Westgate PM, Miller RW, et al. Clinical outcomes of molecular tumor boards: a systematic review. *JCO Precis Oncol.* 2021;5:1122-32.
 30. Pishvaian MJ, Blais EM, Bender RJ, Rao S, Boca SM, Chung V, et al. A virtual molecular tumor board to improve efficiency and scalability of delivering precision oncology to physicians and their patients. *JAMIA Open.* 2019;2:505-15.
 31. Rao S, Pitel B, Wagner AH, Boca SM, McCoy M, King I, et al. Collaborative, Multidisciplinary Evaluation of Cancer Variants Through Virtual Molecular Tumor Boards Informs Local Clinical Practices. *JCO Clin Cancer Inform.* 2020;4:602-13.

32. Health Insurance Review & Assessment Service. Process for off-label drug use for chemotherapy [Internet]. c2018 [cited 2021 Oct 12]. Available from: <https://www.hira.or.kr/bbsDummy.do?pgmid=HIRAA030023080000&brdScnBltno=4&brdBltno=45637>.
33. Clinical Trial Policy Division, Pharmaceutical Safety Bureau, Ministry of Food and Drug Safety. Guideline for expanded access program [Internet]. c2020 [cited 2021 Oct 12]. Available from: https://www.mfds.go.kr/brd/m_1060/view.do?seq=14576&srchFr=&srchTo=&srchWord=&srchTp=&itm_seq_1=0&itm_seq_2=0&multi_itm_seq=0&company_cd=&company_nm=&page=22.
34. Walsh S, de Jong EEC, van Timmeren JE, Ibrahim A, Compter I, Peerlings J, et al. Decision Support Systems in Oncology. *JCO Clin Cancer Inform*. 2019;3:1-9.
35. Blasi L, Bordonaro R, Serretta V, Piazza D, Firenze A, Gebbia V. Virtual Clinical and Precision Medicine Tumor Boards-Cloud-Based Platform-Mediated Implementation of Multidisciplinary Reviews Among Oncology Centers in the COVID-19 Era: Protocol for an Observational Study. *JMIR Res Protoc*. 2021;10:e26220.
36. Kato S, Kim KH, Lim HJ, Boichard A, Nikanjam M, Weihe E, et al. Real-world data from a molecular tumor board demonstrates improved outcomes with a precision N-of-One strategy. *Nat Commun*. 2020;11:4965.
37. Choi YJ, Choi JY, Kim JW, Lim AR, Lee Y, Chang WJ, et al. Comparison of the data of a next-generation sequencing panel from K-MASTER project with that of orthogonal methods for detecting targetable genetic alterations. *Cancer Res Treat*. 2021 20210520 [Epub]. <https://doi.org/10.4143/crt.2021.218>.
38. Nakamura Y, Fujisawa T, Taniguchi H, Bando H, Okamoto W, Tsuchihara K, et al. SCRUM-Japan GI-SCREEN and MONSTAR-SCREEN: Path to the realization of biomarker-guided precision oncology in advanced solid tumors. *Cancer Sci*. 2021;112:4425-32.
39. Barlesi F, Mazieres J, Merlio J-P, Debievre D, Mosser J, Lena H, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *The Lancet*. 2016;387:1415-26.

40. Lee Y, Lee S, Sung JS, Chung HJ, Lim AR, Kim JW, et al. Clinical Application of Targeted Deep Sequencing in Metastatic Colorectal Cancer Patients: Actionable Genomic Alteration in K-MASTER Project. *Cancer Res Treat.* 2021;53:123-30.