유전자 검사
Genetic Test

최 종 락
연세의대 세브란스병원 진단검사의학과
서울 서대문구 신촌동 134
Jong Rak Choi, M.D.
Department of Laboratory Medicine
Yonsei University College of Medicine, Severance Hospital
E-mail : cjr0606@yumc.yonsei.ac.kr

Abstract

The genetic test is a powerful diagnostic tool targeting DNA and RNA, now widely used not only in diagnosis of cancers, infectious disease, genetic disease, but also ABO genotyping, HLA typing, and forensic medicine. Even though a genetic test is of an important diagnostic value, the technical difficulty and expense make it difficult for it to completely replace the standard tests. As it is a test of high sensitivity, there is a possibility of misjudgment by errors in sample. Supplementary tests such as morphology analysis or tissue pathology may be helpful in such cases. The automation of molecular-genetic diagnostic methods such as PCR, DNA sequencing, and DNA chip will help genetic tests highlighted in laboratories in the near future.

Keywords : **Genetic test; DNA; Molecular-genetic diagnostic methods**
핵 심 용 어 : 유전자 검사; DNA; 분자 유전진단법

서 론

1953년에 Watson과 Crick은 DNA의 구조를 밝히면서 상보적인 염기 결합이 DNA 복제와 유전정보를 제공한다고 발표하였다. 그 이후 50년이 지난 지금, 의학 및 생명공학의 발달로 다량의 유전정보를 고속으로 분석하는 것이 가능하게 되었고 인간 유전체 프로젝트(Human Genome Project)의 결실로서 인간 유전체의 99% 이상이 해독되게 되었다. 그리고 이러한 유전자들이 어떻게 활동하고 질병과 어떠한 연관성을 가지고 있는지에 대하여 상당한 부분들이 밝혀지고 있으며 돌연변이 유전자, 특정 질환과 연관성이 있는 유전자 변이 등도 확인 가능하게 되었다. 또한 수많은 질환들을 분자유전학적 기법으로 진단하고 치료하는 시대가 열리게 될 것이라고 기대하고 있다.

유전자 검사는 DNA, RNA를 대상으로 분자유전학적 방법을 사용하는 검사를 뜻하는 것으로 감염 질환, 종양 질환, 유전 질환 뿐 아니라 혈액형 유전 검사, HLA typing, 법의학 등의 분야에서도 널리 사용되고 있다.

유전자 검사는 분석적 타당성과 임상적 타당성을 만족하여야 한다. 분석적 타당성이란 검사의 민감도, 특이도, 정확도, 정밀성, 직선성 등을 결정하는 것이며, 이에 대한

지침은 미국의 National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS), American College of Medical Genetics(ACMG), Centers for Disease Control and Prevention(CDC), FDA, National Institutes of Health(NIH), World Health Organization(WHO) 등 여러 기관에서 제시하고 있다. 임상적 타당성은 양성 예측률과 음성 예측률을 계산하여 임상적 유용성을 평가하는 것이다. 각 단계마다 NCCLS와 같은 지침서에 따라서 엄격한 정도관리가 필요하고 매 검사마다 음성대조, 양성대조, 공백대조, 내부양성대조와 함께 시행되어야 한다. 또한 검사실의 모든 장비도 유지관리, 정도관리, 보정이 지속적으로 시행되어야 한다.

감염성 질환에서 유전자 검사

감염성 질환에서의 유전자 검사는 미생물 검출, 유전형(Genotype)의 분류, 정량 검사, 약제 내성 검사 등에서 사용된다. 대부분의 검사들이 상품화된 키트들이 사용되고 있다.

1. 미생물의 검출

클라미디아 또는 바이러스와 같이 특수한 배지가 필요한 배양검사를 실시하기 어려운 경우, 결핵균과 같이 성장이 매우 느린 미생물의 경우, 배양검사를 통하여 진단을 신속하게 할 수 없는 경우 환자의 검체 중에 존재하는 미생물의 핵산(DNA 또는 RNA)을 검출하면 감염 질환을 정확하고 신속하게 진단할 수 있다.

2. 유전형(Genotype)의 분류

인간유두종바이러스(Human Papilloma Virus)의 경우 현재까지 밝혀진 70개 이상의 유형 중에서 자궁경부암을 일으키는 유형(16, 18, 31, 33, 35, 45, 51, 52, 56)을 검출해 냄으로써 조기 암을 진단할 수 있다. 인간유두종 바이러스는 항원을 거의 생성하지 않기 때문에 항체검사로 바이러스를 검출하기 어렵고, 또한 생체 외 배양을 할 수 없기 때문에 인간유두종 바이러스를 검출하기 위한 방법으로는 DNA 검사 밖에 없다. 그동안 자궁경부암의 조기진단을 위하여 실시하였던 Pap smear로는 아무리 유능한 전문의가 판독하더라도 자궁경부암의 20%를 놓친다는 사실이 알려진 다음 인간유두종 바이러스 DNA 검사가 더욱 각광을 받게 되었다. 우리나라 여성에서 가장 많은 악성 종양이 자궁경부암인 점을 감안하면 인간유두종 바이러스 DNA 검사는 자궁경부암의 선별검사를 위하여 큰 도움을 줄 수 있는 검사종목이다. 그 외에도 HCV 유전자형 검사가 있다.

3. 정량 검사

환자의 혈액 중에 있는 B, C형 간염 바이러스와 에이즈 바이러스의 DNA 양을 측정하여 치료효과를 판정할 수 있다. C형 간염 바이러스의 경우 인터페론 치료 전에 환자 혈액 내의 바이러스 농도를 측정하여 비교적 낮은 농도이면 인터페론에 의한 치료효과를 낙관할 수 있고, 또한 치료 후 4주 이내에 바이러스 농도가 감소되지 않으면 다른 치료방법을 생각해야 한다.

4. 약제 내성 검사

결핵균의 내성은 유전자의 돌연변이와 연관있는 것으로 밝혀져 있으며, 내성 유무를 DNA 검사를 통해 신속하게 알아냄으로써 항결핵제를 적절하게 선택할 수 있다. 우리나라 결핵 환자의 약 10%에서 다약제 내성 결핵균이 검출되고 있으며, 리팜핀은 다약제 내성을 나타내는 대표약제로 밝혀졌기 때문에 리팜핀 내성을 알아내는

표 1. 미생물의 검출 및 동정에 이용되는 분자유전학적 기법

1. 핵산 증폭법
  1) Target amplification system
    ① Polymerase chain reaction(PCR)
    ② Transcription−based amplification
      • Self−sustaining sequence replication(3SR)
      • Nucleic acid sequence−based amplification(NASBA)
      • Transcription−mediated amplification(TMA)
    ③ Strand displacement amplification(SDA)
  2) Probe ampilification system
    ① Q replicase
    ② Ligase chain reaction(LCR)
  3) Signal amplification system
    ① Branched probe technology(bDNA)
    ② Hybrid capture system
2. 핵산 교잡법
  1) Solution hybridization
  2) Filter hybridization
  3) Southern hybridization
  4) Sandwitch hybridization
  5) In situ hybridization

DNA 검사는 항결핵제 선택에서 큰 도움을 줄 수 있다. 벨기에의 Innogenetics사에서 개발한 line probe assay 법(INNO−LiPA)이 국내에 소개되어 사용되고 있다.

감염 질환에서 유전자 검사의 형식으로는 home brew assay와 상품화된 키트가 있다. 전자는 각 검사실에서 여러가지 시약을 조합하여 개발한 검사법으로서 보다 철저한 정도관리가 요구된다. 상품화된 키트에는 검사에 필요한 모든 시약과 정도관리 물질이 포함되어 있어 검사가 간편하다.

종양에서 유전자 검사

1. 혈액 종양

혈액 종양에서 유전자 검색의 필요성은 악성 클론 발생의 병태생리를 이해하고, 정확한 진단과 예후를 판정하며, 치료방침을 결정하고, 최소잔존질병(minimal residual disease, MRD), 즉 치료 후 남아있을 지 모르는 악성 세포를 추적하고 재발 가능성을 예측하기 위한 것이다.

표 2. 백혈병에서 WHO의 새 분류

혈액 종양	염색체 이상	원인 유전자 변화
AML with	t(11;var)(q23;var)	MLL
	t(8;22)(q22;q22)	ETO/AML
	t(15;17)(q22;q21)	PML/RARA
	inv(16)(p13q22)	MYH11/CBF－b
ALL with	t(9;22)(q34;q11.2)	BCR/ABL
	t(11;var)(q23;var)	MLL
	t(1;19)(q23;p13)	PBX1/E2A
	t(12;21)(p12;q2)	TEL/AML1
CML with	t(9;22)(q34;q11.2)	BCR/ABL
MDS with	del(5)(q13q33)	CSF1r, EGFR

혈액 종양의 분류에 있어서 기존에는 형태학, 세포화학 염색, 면역표현형에 근거한 French−American−British(FAB) 분류법을 널리 이용해 왔으나 형태학과 면역표현형에 세포유전학 결과를 추가한 MIC 분류, 분자유전학 결과를 더 추가한 MIC−M 분류가 제안되어 왔다. 최근 WHO에서도 특정 염색체 이상에 근거한 새로운 분류를 제시하고 있다.

혈액 종양에서 관찰되는 대부분의 염색체 전좌는 융합 전사물, 즉 mRNA를 이용한 RT−PCR 방법을 시행하면 검출이 가능하다. 백혈병에서 빈도가 높은 대부분의 염색체 전좌를 RT−PCR로 진단할 수 있으며, 매우 민감한 검사법으로서 악성 세포가 10^3 ~ 10^6개 중 한개만 있어도 검출할 수 있다. 치료효과를 추적하기 위해서는 유전자 재배열이나 그의 융합 전사물에 대한 정량 분석이 요구된다. Quantitative PCR 방법은 이러한 목적에서 고안되었으며 Real−time PCR은 대상핵산의 증폭과 검출을

표 3. 유전성 종양의 원인 유전자들

	Chromosome Location	Gene Product	Function
Tumor Suppressor Genes			
Retinoblastoma	13q14	pRB	Transcription factor
Wilms tumor	11p13	WT1	Transcription factor
Neurofibromatosis type 1	17q11	Neurofibromin	GTPase activation protein
Neurofibromatosis type 2	22q12	Merlin	Cytoskeletal protein
Familial polyposis coli	5q21~22	APC	Binds to beta−catenin
Familial breast cancer 1	17q21	BRCA1	Transcription factor
Familial breast cancer 2	13q12	BRCA2	Transcription factor
Li−Fraumeni syndrome	17p13	p53	Transcription factor
Von Hippel−Lindau disease	3p25~56	VHL	Unknown
Familial melanoma	9p21	p16	Kinase inhibitor
Oncogenes			
Multiple endocrine neoplasia type2	10q12	RET	Receptor tyrosine kinase
DNA Repair Genes			
Hereditary nonpolyposis colon cancer	2p16	MSH2	DNA repair
	3p21	MLH1	DNA repair
	2q31~33	PMS1	DNA repair
	7p22	PMS2	DNA repair

PCR 각 주기마다 실시간으로 확인할 수 있는 방법이고, PCR의 log phase 초기에 분석할 수 있으므로 정량 분석이 가능하다.

동종 골수이식 후 골수에서 관찰되는 세포들이 공여자의 것인가를 판정하는 방법으로는 공여자와 환자의 성이 다른 경우는 X/Y 염색체 차이를 이용하여 세포유전학 검사, FISH 방법, 또는 PCR 방법으로 알 수 있다. 성이 같은 경우에는 공여자와 환자간에 차이를 보이는 유전자 다형성(DNA polymorphism)을 분석함으로써 가능하다.

2. 유전성 종양

유전성 종양의 원인 유전자의 대부분은 암 억제유전자(tumor suppressor gene)이며 암 유전자(oncogene)나 DNA 복구유전자(DNA repair gene)도 있다(표 3).

원인 유전자의 크기가 크고 돌연변이의 호발부위가 없다면 DGGE, SSCP, HA와 같은 선별검사를 시행한 후 염기서열분석으로 확인한다. 이미 알고 있는 돌연변이를 가진 환자의 가족 검사의 경우는 PCR−RFLP, allele specific amplication 및 allele specific oligonucleotide 소식자를 이용하여 검사가 가능하다.

유전 질환에서 유전자 검사

단일 유전자 질환(single gene disorders)이란 하나의 유전자 변이가 원인이 되어 일어나는 유전 질환을 말하며 대개의 경우 멘델유전 양식(Mendelian inheritance)을 따른다. 멘델유전 양식은 상염색체 우성(autosomal dominant), 상염색체 열성(autosomal recessive), X−연관(X−linked) 유전 질환으로 분류할 수 있다.

다인자 질환은 유전적 요인들과 비유전적 요인들의 조

합에 의해 유전하며, 이들 각각의 요인들은 상대적으로 작은 효과를 나타낸다. 다유전인자 유전 질환은 개별 유전자들로서는 작은 영향을 끼치는 많은 유전자들이 함께 유전하는 것으로 추정되는 질환이다. 모든 인체 질환에 적용되는 것은 아니나 과거에는 유전적 영향을 고려하지 않던 질환들에서도 유전적 이환성(genetic susceptibility)이 밝혀지고 있으므로 점점 더 많은 질환이 다인자 유전 질환의 범주에 속하고 있다.

표 4. 대표적 유전 질환

유전 형태	질 환
상염색체 우성	고콜레스테롤혈증(familial hypercholesterolemia)
	성인 다낭성 신증(adult polycystic kidney disease)
	근육긴장퇴행위축(myotonic dystrophy)
	Huntington병
	유전성 구상적혈구증(hereditary spherocytosis)
	본빌레브란씨병(von Willebrand disease)
	Marfan 증후군
	연골발육부전증(achondroplasia)
상염색체 열성	상적혈구성 빈혈(sickle cell anemia)
	낭포성 섬유증(cystic fibrosis)
	Tay－Sachs 병
	페닐케톤뇨증
	점액다당류증(mucopolysaccharidoses)
	당원병(glycogen storage disease)
X－연관 열성	혈우병
	적록색맹
	Duchenne형 근이영양증(Duchenne muscular dystrophy)
	Lesch－Nyhan 증후군
	글루코스－6－인산 탈수소 효소 결핍증 (glucose－6－phosphate dehydrogenase deficiency)

1. 유전 질환의 진단방법

1) 직접 진단법 (Direct Mutation Test)

각 유전 질환에서 병의 원인이 되는 유전자와 그 원인이 되는 유전자의 결함, 즉 점돌연변이(point mutation), 유전자 결실, 삼염기 반복구조의 증폭 등을 확실히 알 수 있는 경우에는 그 결함부위를 직접 검사하는 방법이다. 중요한 검사기법으로는 중합효소연쇄반응, Southern 분석, dot blot, 염기서열분석, 동소교잡법 등이 있고 돌연변이 선별검사로는 single－stranded conformation polymorphism(SSCP), heteroduplex assay(HA), denaturing gradient gel electrophoresis(DGGE) 등이 있다.

2) 간접 진단법 (Indirect Diagnosis : Linkage Analysis)

유전자의 결함부위를 직접 분석할 수 없는 경우에 대상 질병의 원인 유전자에 밀접한 DNA 표지자를 이용하여 질병 원인 유전자의 유전 양상을 분석한다. 이를 이용하여 보인자 검색, 산전진단 등을 할 수 있으나 이 방법에는 여러 단점이 있다. 즉 가족 내의 환자가 생존해 있지 않거나, 원인 유전자와 DNA 표지자 사이에 재조합률이 높거나, 가족관계가 불확실하거나, 환자부터 새로 시작되는 (sporadic) 돌연변이의 경우에는 사용하기가 어렵다. 질병 원인 유전자가 발견되고 돌연변이 양상이 규명되면 직접진단법으로 전환되어야 한다.

2. 유전 질환 진단시 윤리적 문제

기존의 모든 임상검사는 기본적으로 환자가 아파서 병원에 왔을 때 의뢰되는 것이다. 그러나 분자유전학 검사의 발전으로 인해 일부 질환에서는 증상이 나타나기 전에

발병 유무와 발병시기를 예측할 수 있게 되었으며 이를 증상 전 예측검사(presymptomatic predictive test)라 한다. 이러한 예측검사는 적절하게 사용될 경우 매우 유용할 수 있으나, 또한 매우 심각한 윤리적 문제를 안고 있다. 따라서 유전자 검사를 수행하기 이전에 환자 및 가족 구성원에게 검사의 전반적인 사항과 유용한 정보를 얻지 못할 가능성, 검사의 정확도, 유전 확률, 비밀보장의 문제 등에 대해 충분히 설명하고 유전자 검사의 결과에 따른 유전 상담을 필수적으로 시행하여 정확한 정보를 제공해 주어야 한다.

결 론

유전자 검사는 진단적 가치가 큰 검사법이기는 하지만 검사방법의 기술적 난이성과 비용 측면에서 기존의 검사법을 완전히 대체하기는 어렵다. 또한 민감한 검사법이기 때문에 검체의 오류로 인한 잘못된 해석이 내려질 수도 있으므로 형태학적 분석이나 조직병리 등 기존의 검사방법과 상호 보완적으로 시행할 필요가 있다. 그러나 중합효소연쇄반응이나 염기서열분석, DNA 칩 등의 분자유전학 기법이 자동화되는 추세이어서 진단분자유전학 검사는 향후 검사실에서 더 큰 위치로 자리잡을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. 대한임상병리학회. 임상병리학. 3판. 서울 : 고려의학, 2001 : 585 - 628
2. Unger ER, Piper MA. Molecular diagnosis : basic principles and techniques. In : Henry JB, ed. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 20th ed. Philadelphia : WB Saunders, 2001 : 1275 - 80
3. Cormican MG, Pfaller MA. Molecular pathology of infectious diseases. In : Henry JB, ed. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 20th ed. Philadelphia : WB Saunders, 2001 : 1241 - 53
4. Viswanatha DS, Larson RS. Molecular techniques in the diagnosis of hematopoietic neoplasms. In : Henry JB, ed. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 20th ed. Philadelphia : WB Saunders, 2001 : 1355 - 71
5. Morgan GJ, Pratt G. Modern molecular diagnostics and the management of hematological malignancies. Clin Lab Hematol 1998 ; 20 : 135 - 441
6. Grody WW, Noll WW. Molecular diagnosis of genetic diseases. In : Henry JB, ed. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 20th ed. Philadelphia : WB Saunders, 2001 : 1372 - 89
7. Beaudet AL, Scriver CR, et al. eds. Genetics, biochemistry, and molecular basis of variant human phenotypes. In : Scriver CR, Beaudet AL, et al. eds. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 7th ed. New York : McGraw—Hill, 1995 : 53 - 117