

통권 34호 Vol.11 No.1



Lab. Information & Technology



혈액질환관련 유전자 검사 안내
(JAK2 & FLT3 돌연변이 검사)

TPMT 약물유전자형 검사
검사정보

[다음호 예고]

염색체 수 이상 신속 스크리닝 검사
(형광정량법)

암 유전자 검사
검사정보



혈액질환관련 유전자 검사 안내

(JAK2 & FLT3 돌연변이 검사)

JAK2 돌연변이 검사

(골수증식성 질환진단의 새로운 유전자 검사법)

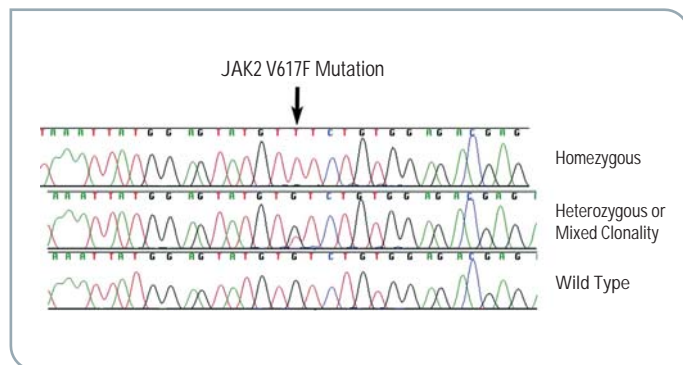
Janus Kinase2(JAK2) 유전자는 조혈세포의 erythropoietin, thrombopoietin 및 다른 cytokine에 대한 민감성에 관계하는 유전자로 JAK2 유전자의 돌연변이인 617번째 코돈인 발린이 페닐알라닌으로 바뀌게 되는 V617F 점돌연변이가 BCR-ABL 음성 골수 증식성 질환인 진성 적혈구 증다증(Polycythemia vera)의 90%이상, 본태성 혈소판 증가증(Essential thrombocythemia)와 특발성 골수 섬유증(Idiopathic Myelofibrosis)의 약 50%에서 발견됩니다.

따라서 V617F 돌연변이 분석은 골수증식성 질환을 이차적 적혈구증다증이나 혈소판 증가증과 같은 반응성 질환과 감별하는데 매우 유용한 정보를 제공하며, 적혈구증다증이나 혈소판증가증을 보이는 환자에서 말초혈액으로 편리하게 검사를 시행할 수 있습니다.

V617F 돌연변이 분석은 환자의 진단뿐만 아니라 추적관찰, 유전적 기초에 따른 질환의 분류 및 치료제 적용에도 중요한 지침으로 작용하는 것으로 밝혀지고 있습니다.

JAK2 유전자 돌연변이 빈도

- ① 진성 적혈구 증다증(PV) : 74-97%
- ② 본태성 혈소판 증가증(ET) : 33-57%
- ③ 특발성 골수 섬유증(IMF) : 35-50%
- ④ MDS & CMML : 3-5%



JAK2 유전자 검사의 임상적 유용성

- ① 진성 적혈구 증다증, 본태성 혈소판 증가증, 특발성 골수 주의 확진.
- ② 적혈구, 백혈구, 혈소판의 증가를 보이는 환자에서 골수증식성 질환의 확인.
- ③ JAK2를 표적으로 한 치료제 개발중

※ 본 내용은 www.gcl.co.kr에서 다시 보실 수 있으며 연락주시면 파일로 보내드립니다. (Tel. 031-260-9677)

- **검 체** : EDTA whole blood 5mL
- **검 사 일** : 월요일 ~ 금요일
- **검사소요일** : 7일
- **검 사 방 법** : PCR & Sequencing (중합효소연쇄반응-직접염기서열 분석법)
- **검 사 문 의** : 분자유전검사실 담당 전문의 031-260-9216

Table 1. Semi-molecular classification of myeloproliferative disorders (MPD).

	Main Categories	Subcategories
I. Classic MPD	1. <i>BCR-ABL</i> -positive 2. <i>BCR-ABL</i> -negative	Chronic myeloid leukemia (CML) A. Polycythemia vera (~100% <i>JAK2V617F</i> *) B. Essential thrombocythemia (~50% <i>JAK2V617F</i> *) C. Myelofibrosis (~50% <i>JAK2V617F</i> *)

Table 2. Myeloproliferative Disorders with Known Dysregulated Protein Kinases

Disorder	Disrupted Protein Kinase(s)
Chronic Myelogenous Leukemia	bcr / abl
Systemic Mast Cell Disease	c-kit ; PDGFR α
PV / ET / IMF (and some Ph neg CML, CMML, chronic neutrophilic leukemia, megakaryocytic leukemia, MDS)	JAK2
Hypereosinophilic syndrome (HES)	PDGFR alpha and beta

Reference

- **Baxter E. et al.** Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365:1054-1061.
- **Kralovics R. et al.** A Gain-of-Function Mutation of JAK2 in Myeloproliferative Disorders. *N Engl J Med.* 2005; 352:1779-1790.
- **James C. et al.** A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005;434:1144-1148.
- **Jones AV. et al.** Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation in chronic myeloproliferative disorders. *Blood* 2005;106:2162-2168.
- **Tefferi A, Gilliland DG.** The JAK2 V617F Tyrosine Kinase Mutation in Myeloproliferative Disorders: Status Report and Immediate Implications for Disease Classification and Diagnosis. *Mayo Clin Proc.* 2005;80(7):947-958.

JOURNAL REVIEW

JAK2 V617F in Myeloid Disorders: Molecular Diagnostic Techniques and Their Clinical Utility: A Paper from the 2005 William Beaumont Hospital Symposium on Molecular Pathology.

David P. Steensma [Mol. Diagn. 2006 8: 397–411]

2005년도 초반에 몇몇 골수성 혈액질환 연구자들에 의해 정상적인 혈액성장인자의 시그널에 중요한 역할을 담당하는 Janus Kinase 2 단백질의 pseudokinase domain에 새로운 돌연변이(V617F)가 보고되었다. V617F 돌연변이는 BCR/ABL 음성인 만성 골수증식성 환자의 대부분과 골수이형성증후군(MDS), 비전형 골수증식성질환(Atypical myeloproliferative disorders)과 급성골수구성백혈병 환자의 말초혈액과 골수에서 발견되었다. V617F는 혈액성장인자의 자극조절의 세포내 시그널을 방해한다(Fig. 1).

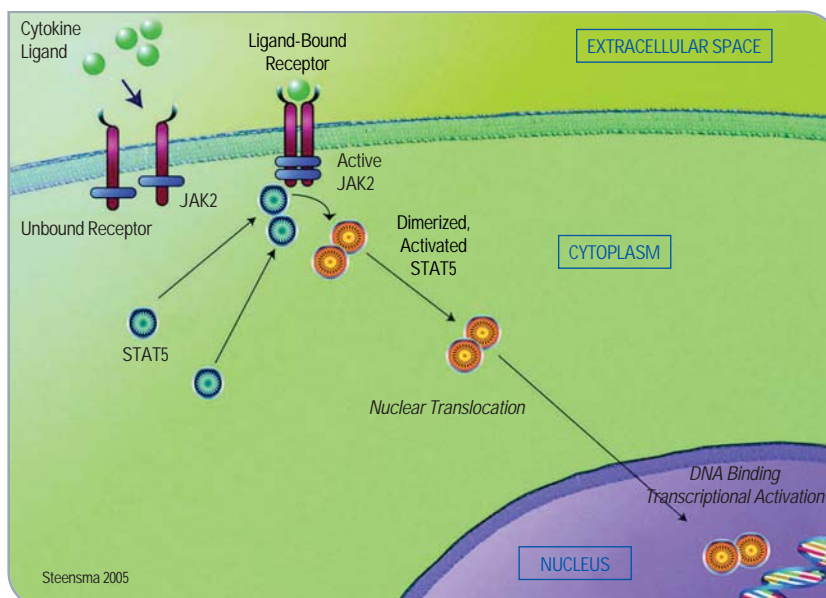
JAK2 돌연변이의 발견이전까지는 BCR/ABL 음성인 골수증식성 혈액질환을 진단할 수 있는 특이한 유전자 검사법이 없었으므로, JAK2 돌연변이 발표 후 약 7개월만에 미국과 유럽에서 JAK2 돌연변이검사가 임상검사로 보편화되었고, 2005년도에만 관련 논문이 1,200편 이상이 발표되었다.

아직까지 정상인을 대상으로 한 검사에서는 V617F 돌연변이가 한 건도 발견되지 않았기 때문에 본 검사의 특이도는 100%이다. 골수증식성 질환을 진단하는데 특이도가 임상학에게 특히 중요한 이유는 반응성으로 혈액이 증식된 상태와 골수증식성질환이 임상적으로 상당부분 겹치므로, 골수증식성질환으로 확진하기가 쉽지 않았기 때문이다.

대부분의 본태성 혈소판 증가증(ET)환자와 특발성 골수 섬유증(IMF) 환자는 정상적인 JAK2 DNA와 돌연변이 JAK2 DNA를 함께 가지는데, 정상적인 DNA는 림프구와 같은 비종양성 정상세포에서 유래한다.

JAK2 돌연변이의 임상적인 예후와의 관련성은 아직까지는 불확실한데 일부연구자는 JAK2돌연변이가 혈색소의 증가, 혈전이나 출혈, 골수섬유화와 심한 가려움증의 높은 빈도와 연관된 것으로 보고하고 있다. 따라서 JAK2 돌연변이 검

Fig 1.



사의 목적은 예후예측보다는 주로 골수증식성 질환의 진단이며, 특히 골수증식성질환이 의심되는 상황에서 V617F의 발견은 확진을 가능하게 한다(Fig. 2 & 3).

검사방법으로는 직접 DNA 염기서열분석법, Allele specific PCR, 실시간 PCR(Real time PCR & DNA melting curve analysis), 제한효소길이다형성(RFLP), pyrosequencing 법등이 가능하다. 이중 DNA 염기서열분석법은 염기서열에 대한 정보를 직접 눈으로 관찰할 수 있어 우수한 검사법이나 배경 noise로 인하여 민감도에는 한계가 있어 정상적인 DNA중에 비정상 DNA가 20%이상 존재하면 감지가 가능하다.

Fig 2. A Proposed Erythrocytosis Diagnostic Algorithm

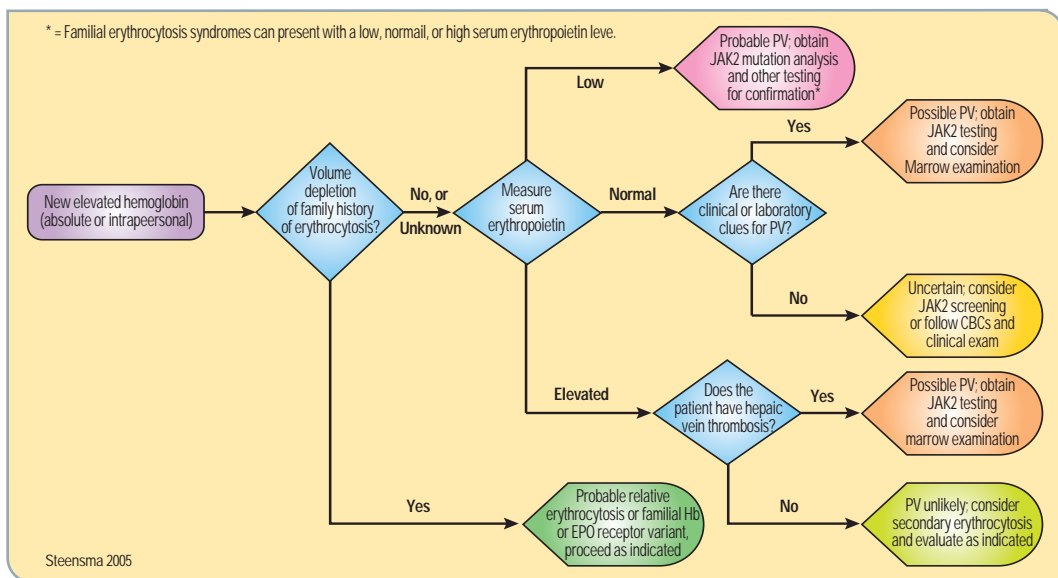
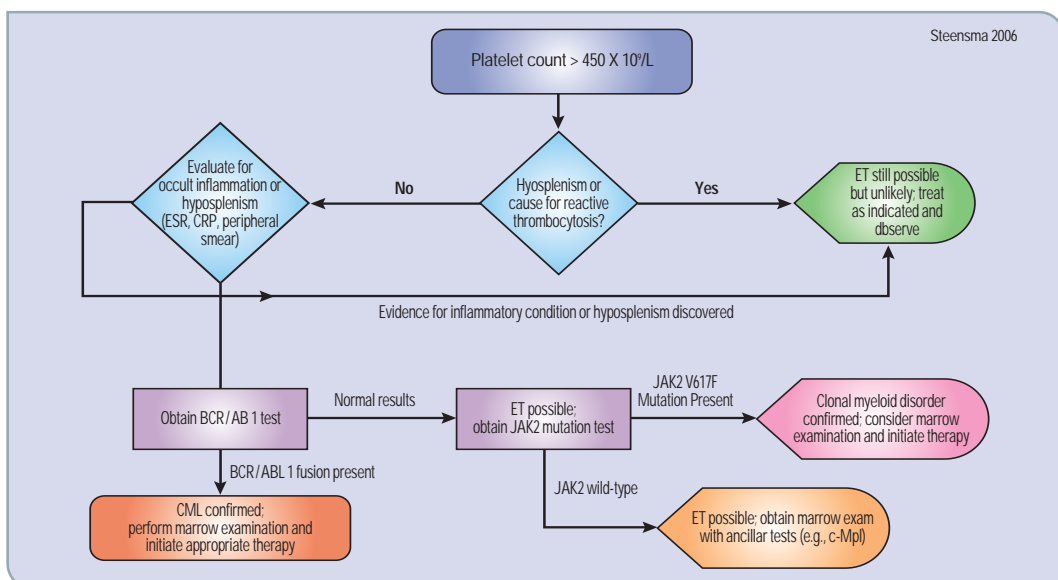


Fig 3. A Proposed Diagnostic Algorithm For Thrombocytosis



FLT3 돌연변이 검사

(급성 골수구성 백혈병 진단의 새로운 유전자 검사법)

급성 골수구성 백혈병(AML)의 가장 흔한 유전자 변이인 FLT3변이에는 FLT3 유전자내 이중복사(Internal Tandem Duplication : ITD)와 D835 돌연변이가 있습니다.

FLT3는 tyrosine kinase로 FLT3 유전자의 이중복사 돌연변이(ITD)는 성인 급성 골수구성 백혈병 환자의 20-30%, 골수이형성증 환자의 3%에서 관찰되는 것으로 보고되며, 이런 돌연변이가 존재시 백혈구수 증가와 나쁜 예후와 연관성이 있습니다.

FLT3 유전자의 점돌연변이인 D835는 급성 골수구성 백혈병의 7%에서 관찰되며, FLT3 단백질의 활성 loop내에 존재하는 835번째 아미노산의 변화를 유발합니다.

이들 돌연변이가 존재할 경우, 치료에 대한 반응이 좋지 않고 재발의 위험성이 높은 것으로 보고되어 예후결정의 중요한 지침이 됩니다.

- 검 체 : EDTA whole blood 5mL
- 검 사 일 : 월요일 ~ 토요일
- 검사소요일 : 7일
- 검 사 방 법 : PCR & Sequencing (중합효소연쇄반응-직접염기서열 분석법)
- 검 사 문 의 : 분자유전검사실 담당 전문의 031-260-9216

FLT3 돌연변이의 빈도

- ① 급성 골수구성 백혈병 : ITD(Internal tandem duplication) : 20-30%, D835 : 7%
- ② 골수이형성증(MDS) : ITD : 3%

FLT3 유전자 검사의 적응증

- ① 급성 골수구성 백혈병의 진단 및 예후 결정
- ② 백혈병 환자의 추적관찰
- ③ FLT3를 표적으로 하는 치료제 개발중

Reference

- Biology, clinical relevance, and molecularly targeted therapy in acute leukemia with FLT3 mutation. Int J Hematol. 2006 May;83(4):301-8.
- FLT3 mutations in acute myeloid leukemia. Methods Mol Med. 2006;125:189-97.
- FLT3 in human hematologic malignancies. Leuk Lymphoma. 2002 Aug;43(8):1541-7.
- Clinical implications of FLT3 mutations in pediatric AML. Blood. 2006 Dec 1;108(12):3654-61.

※ 본 내용은 www.gcri.co.kr에서 다시 보실 수 있으며 연락주시면 파일로 보내드립니다. (Tel. 031-260-9677)

TPMT 약물유전자형 검사

TPMT는 Azathiopurine계열 약물(6-MP, Azathioprine(Imuran®)의 대사에 관여하는 효소로 TPMT 유전자형검사로 통상적인 약물용량에도 심한 혈액학적 부작용을 보일 수 있는 환자를 약물치료전에 미리 선별하여 안전성을 극대화하고, 맞춤 약물치료가 가능하게 합니다.

TPMT 유전자형 검사의 장점

- ① Thiopurine계 약물치료를 시행할 환자에서 TPMT 유전자형 검사로 Thiopurine계 약물의 심각한 부작용인 골수 억제를 예방할 수 있다.
- ② TPMT 유전자형 검사로 치료전 약물용량을 조절하여 약물 효과를 극대화 할 수 있다.

Table 3. Thiopurine 계 약물과 사용질환

약물 (Drug)	사용질환 (Disease Area)
6-MP (Purinethol®)	백혈병 (급성 골수구성 & 림프구성)
6-MP, Azathioprine (Imuran®)	염증성 장질환 (크론병)
Azathioprine (Imuran®)	류마티스 관절염
Azathioprine (Imuran®)	장기이식 수혜자
Azathioprine (Imuran®)	자가면역성 간염

약물유전자 검사란?

약물유전자검사는 개인별 맞춤약물요법을 위한 검사로 동일한 질병을 가지고 있는 환자에게 동일한 약물을 똑같은 용법으로 투여하더라도 치료효과는 개개인에 따라 현저한 차이를 보이며, 어떤 환자에서는 치료 실패 혹은 약물에 의한 심각한 부작용을 경험하게 됩니다.

TPMT 유전자형 검사란?

6-MP와 AZA(Azathioprine)의 효능과 독성 측면에서 다양한 개인차는 대부분 TPMT 활성도의 타고난 차이에 기인하며 TPMT 활성도는 TPMT 유전자형과 연관된다. 즉 TPMT 활성도가 낮은 환자에게 일상적인 용량의 6-MP/AZA를 투여하면 대사산물의 농도가 높게 축적되어 임상적 효과도 좋은 반면 골수기능 억제의 위험도도 높습니다. 반대로 TPMT 활성도가 매우 높은 약 10%에서는 효능이 낮습니다. 그러므로 6-MP/AZA를 처음 사용하기에 앞서 환자의 TPMT 유전형 또는 활성도를 알면 부작용을 피함으로써 안전성을 극대화할 수 있습니다.

임상적 의의

TPMT 대사능을 저하시키는 돌연변이를 가진 환자에서는 골수억제와 같은 약제독성이 흔하며 투약중단의 빈도가 높습니다. 따라서 관련 약제(6-MP, Azathioprine) 투약시에는 TPMT 유전자형에 Homozygous mutant or compound heterozygote인 경우 wild type의 6-10%로, Heterozygous mutant type인 경우 65%로 감량 투약할 것이 권장됩니다.

검사 대상 돌연변이

- TPMT 유전자형 : TPMT *1, 2, 3A, 3B, 3C, 3D, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10.15, 16
- 검 체 : EDTA whole blood 4mL
- 검 사 방 법 : PCR & Sequencing (중합효소연쇄반응-직접염기서열분석법)
- 검 사 일 : 월요일~금요일
- 검사 소요시간 : 7일
- 검 사 문 의 : 분자유전검사실 담당 전문의 031-260-9216

Reference

- Gastroenterology 2000;118:1025-30.
- Ann Intern Med 1997;126:608-14.
- Pharmacogenomics 2002;3:89-98
- J Natl Cancer Inst 1999;91:2001-8.
- J Clin Oncol 2001;19:2293-301.



검사 정보 변경 Review

1. 2007년 영양급여비용 상대가치점수당 단가 변경 안내

변 경 전 : 2006년 영양급여비용 상대가치점수당 단가 : 60.7원

변 경 후 : 2007년 영양급여비용 상대가치점수당 단가 : 62.1원

시행일자 : 2007년 1월 2일

2. 검사일 변경 안내

(시행일자 : 2006년 11월 11일 접수분)

No.	검 사 명	변 경 전(검사일/소요일)	변 경 후(검사일/소요일)	변경 사유
1	Apolipoprotein C III	월, 수 / 5일	매일 / 3일	건수증가
2	Bone ALP	수 / 21일	화 / 5일	건수증가
3	HVA(P)	월, 목 / 25일	격주화 / 5일	건수증가
4	HEV RNA PCR	월, 수 / 5일	수 / 7일	건수감소
5	HDV RNA PCR	월, 수 / 5일	수 / 7일	건수감소
6	Diazepam	수 / 3일	화 / 15일	건수감소
7	Nordiazepam	수 / 3일	화 / 15일	건수감소
8	Clonazepam	수 / 3일	화 / 20일	건수감소
9	Anti sperm Ab	수 / 12일	화 / 12일	-
10	Insulin receptor Ab	수 / 21일	수 / 15일	-

3. 참고치 변경

검 사 명	변 경 전	변 경 후	시행일자	변경 사유
T3	0.86~1.87 ng/mL	0.60~1.64 ng/mL	2006. 12. 18 접수분	참고치 재설정
Melatonin	Day time: up to 30 pg/mL Night time : up to 150 pg/mL	Day time: up to 35 pg/mL Night time: up to 150 pg/mL	2006. 12. 7 접수분	시약제조사의 검사방법 일부변경
δ-ALA(Aminolevulinic acid)	7~13 mg/day	below 7.5 mg/day	2007. 1. 15 접수분	검사방법 변경
Porphobilinogen(정량)	1.3~7.0 mg/day	below 7.5 mg/day	2007. 1. 15 접수분	검사방법 변경

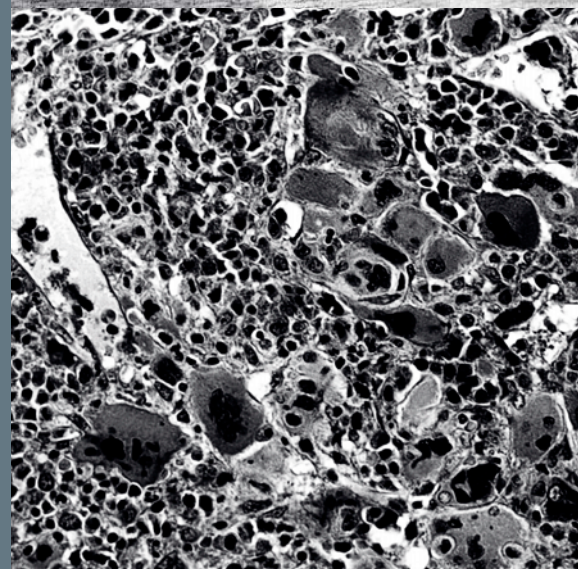
4. 검사방법 변경

(시행일자 : 2007년 1월 22일 접수분)

검 사 명	검사방법 변경	검사 가격 변경(2007년 기준)
Hantaan virus Ab(정량)	HA → IFA	C4681470(11,760원) → C4682476(15,890원)

Lab. Information & Technology

<http://www.gcrl.co.kr>



Green Cross Reference Lab.
녹십자의료재단 SINCE1982

경기도 용인시 기흥구 보정동 314 TEL: 031-260-9600, 031-260-9261