

· 인사말 ·

암은 우리나라 사망원인 1위이며 인구증가 및 고령화와 환경문제, 식습관 등으로 발병률이 지속적으로 증가하고 있습니다. 이러한 가운데, 실제적으로 표적항암치료에 반응하는 환자는 10~20% 정도에 불과하여 비효과적인 치료로 인해 환자들의 삶의 질은 하락하고, 불필요한 경제적 비용과 건강보험 재정이 발생하고 있습니다. 따라서 치료 효율 확보를 위해 표적항암제 적용 대상 환자 선별을 위한 진단법의 개발이 반드시 필요한 실정입니다.

저희 항암제 동반진단 사업단에서는 표적항암제 적용대상 환자를 선별할 수 있는 동반진단에 대한 규정 및 산업, 의료 가이드라인에 부합하는 인프라를 구축하고 표적항암제 동반진단 기술개발을 위해 노력하고 있습니다.

구체적인 사업단의 목표는 폐암 및 대장·직장암 등 주요 암에 대한 표적항암제 치료 효율성의 제고뿐만 아니라 암 치료 효과를 모니터링 할 수 있는 체외동반진단기기 개발을 하는 것이며, 현재는 임상적 검증을 통해 제품의 체외진단용의약품 인허가 획득과 신의료 기술을 인증 받기 위하여 관련 기술에 대한 다양한 연구 개발을 수행하고 있습니다. 본 사업단이 개발하는 항암제 체외동반진단기기는 암의 치료방향을 명확히 제시하고 암 치료의 효율성을 극대화하며 부작용은 최소화시키면서 치료 효과를 지속적으로 모니터링 함으로써 암 치료 비용의 감소와 더불어 환자의 삶의 질 향상과 환자 가족의 경제적 부담 경감과 건강보험 재정의 건전성 회복에도 이바지 할 것으로 예상하고 있습니다.

이번 성과교류회에서는 본 사업단이 연구개발 과정에서 습득한 체외동반진단기기 연구개발의 방법론적 접근법과 현재까지의 연구개발 결과, 사회적 파급효과 및 체외동반진단기기와 국가 보건 재정의 상관관계 등에 대한 정보를 전달하고 참석한 학·연·산 관계자 및 실무자들로부터 현장의 요구와 협력방안에 대한 의견을 교류하는 자리가 될 예정입니다. 참석해주신 여러분께 감사드리며 의미있는 자리가 되시길 바랍니다.

항암제동반진단사업단
단장 신 영 기

제 378 회 학·연·산 연구성과 교류회 계획

1. 주 제 : Companion diagnostics: its concept, development and economics
2. 주 최 : 한국연구재단
3. 주 관 : 서울대학교 N-Bio(생명공학공동연구원) 항암제동반진단사업단
4. 일 시 : 2014. 11. 25 화요일, 12:30 ~ 18:00
5. 장 소 : 서울대학교 인문사회계 멀티미디어 강의동 (83동 6층 604호 소강당)
6. 행사일정

PROGRAM

시 간	제 목	연 사
12:40~13:00	등 록	
13:00~13:05	식전 안내	대구가톨릭대학교 약학대학 최준석 교수
13:05~13:15	개회사	서울대학교 약학대학 신영기 교수
13:15~13:30	축사 및 인사말	한국연구재단 및 신영기 교수
Session I		좌장: 양기화 평가위원, 사회: 최준석 교수
13:30~14:00	체외동반진단기기란 무엇인가?	서울대학교 약학대학 신영기 교수 / 2
14:00~14:30	ddPCR기반 체외동반진단기기의 설계 및 Analytical validation	(주)Abion CRO센터 오명렬 센터장 / 16
14:30~15:00	유체생검 장치의 개발	(주)Abion 부설연구소 김영덕 소장 / 32
15:00~15:30	NGS의 임상적 적용	성균관대학교 의과대학 최윤라 교수 / 46
15:30~15:50	Coffee Break	
Session II		좌장: 신영기 교수, 사회: 최준석 교수
15:50~16:20	체외동반진단기기의 경제성 평가	고려대학교 약학대학 최상은 교수 / 58
16:20~16:50	동반진단 검사의 등재절차 및 제한점	한국로슈진단 권창익 차장 / 72
16:50~17:20	체외동반진단기기 관련 신의료기술평가	가천대학교 간호대학 이선희 교수 / 82
17:20~17:50	항암치료 비용과 건강보험 재정	건강보험심사평가원 박미혜 연구위원 / 98
17:50~18:00	폐회사	서울대학교 약학대학 신영기 교수

제 378 회 학·연·산 연구성과 교류회 진행순서

2014. 11. 25. 12:30~18:00

【연구성과 교류회 개최】

1. 등 록 (12:30~13:00)
2. 식전안내 (13:00~13:05)
 - 사 회 : 대구가톨릭대학교 최준석 교수
3. 개회 (13:05~13:30)
 - 개회사 : 서울대학교 신영기 교수
 - 감사패 전달
 - 축 사 : 한국연구재단 - 원재호 정책연구위원
 - 인사말 : 서울대학교 신영기 교수

【연구성과 교류회 진행】

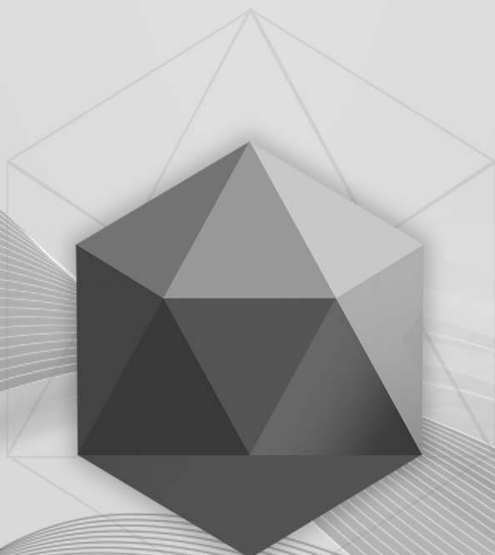
4. 주제발표 (13:30~17:50)
 - 발표 순서 별로 주제 발표 및 질의 응답
 - Coffee break

【연구성과 교류회 종료】



SESSION I

작장: 양기화 평가위원, 사회: 최준석 교수





체외동반진단기기란 무엇인가?

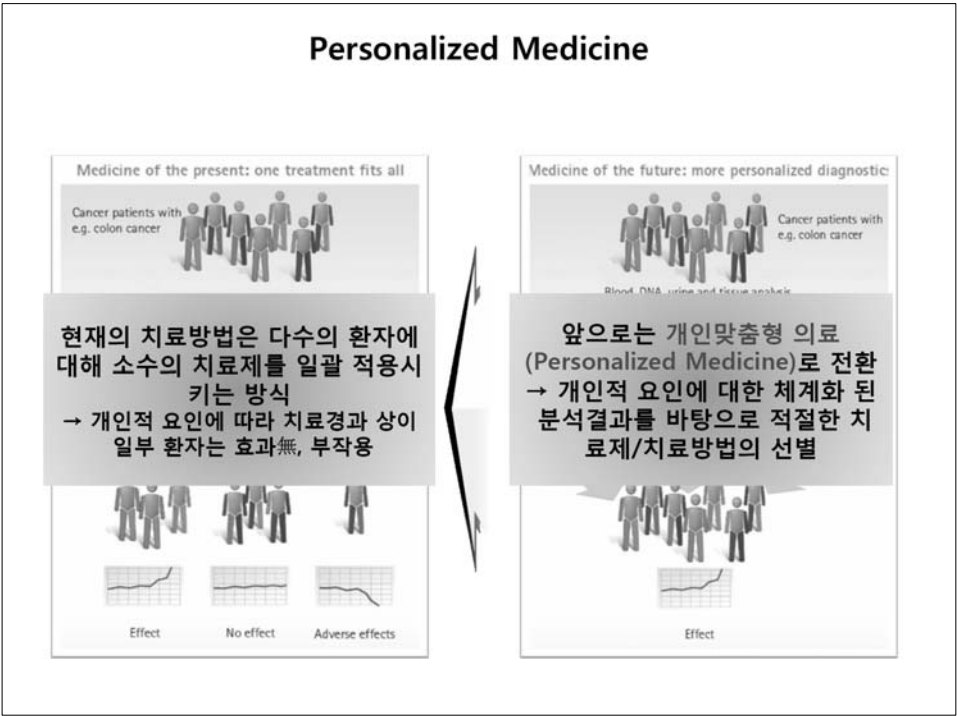
신 영 기

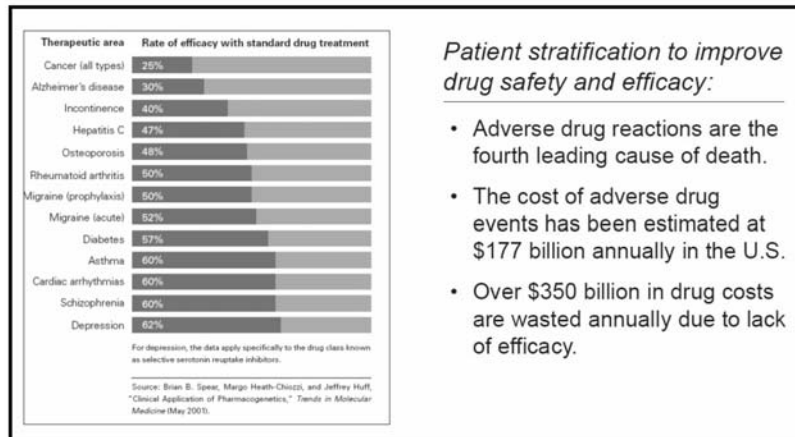
서울대학교 약학대학

체외동반진단기기는 면역조직화학, FISH, qPCR 등의 검사법을 이용하여 환자의 표적항암제 등 약물에 대한 반응성을 예측하고 치료 효과를 모니터링 할 수 있는 키트이다.

유방암 표적 항암제인 Herceptin이 개발된 1998년 이후 '왜 효과가 없음에도 불구하고 표적항암제를 처방을 하는가?'라는 이슈가 전 세계적으로 큰 화두로 부각되어 왔다. 메이저 다국적제약사 중 하나인 로슈는 이러한 질문에 대한 대안 마련과 표적항암신약을 적용할 환자군 선별을 위해 동반진단을 기반으로 하는 표적항암제 시장을 선도해 왔다. 올해 여름 미국 FDA는 표적항암제 개발 시 반드시 "Companion diagnostics kit"를 개발할 것을 명시한 바 있으며, 최근 개발되고 있는 표적항암제들은 신약 개발 초기부터 바이오마커의 개발을 병행하고 있다. 따라서, 체외동반진단기기 개발의 필요성과 시장의 확장성은 매우 유망하며 현재 세계 제약 시장에서 항암제 사용에 대한 기존 질서가 재편되고 있는 시기이므로 우리나라가 적극적인 연구개발을 통해 세계 시장에 진입할 수 있는 적기라고 할 수 있다.

본 발표에서는 위와 같은 근거로 암 관련 유전자를 이용한 동반진단 검사 및 제품의 정의와 필요성, 체외진단분석기용 시약(IVD)과 동반진단시약 CDx)의 차이점, 해외 동반진단 시장의 규모 및 사례와 체외동반진단기기의 개발로 인한 사회문제 해결 기여도 등에 대해 발제하고 본 학연산 성과교류회의 취지를 설명할 것이다.

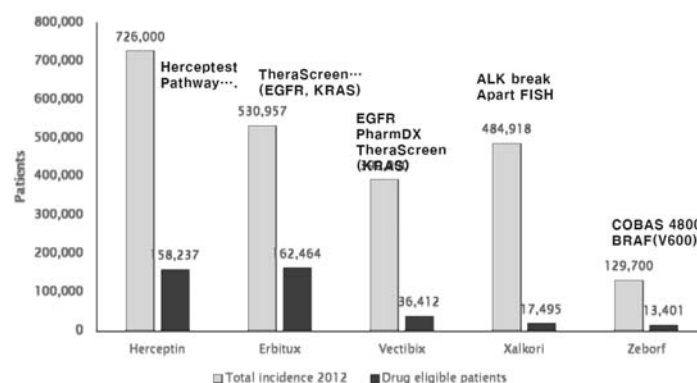




Source: Personalized Medicine(2011) 8(2), 137-148

Personalized cancer therapies have reduced patient populations

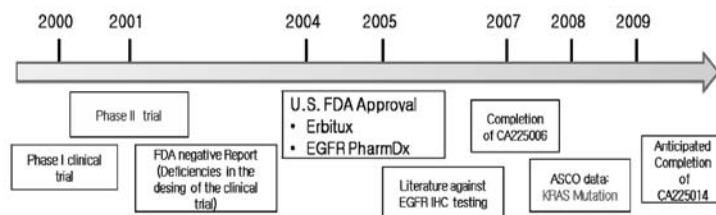
"The risk of a CDx reflects the risk of a targeted therapy"



Source : Multiple Datamonitor Epidemiology : breast cancer, Colorectal cancer, Gastric cancer, Melanoma, and Non-small cell lung cancer, please see bibliography; Datamonitor, Pipeline Insight : Cancer Overview – Lung, Brain, Head and Neck, Thyroid, July 2008, DMHC2412

EGFR pharmDx™

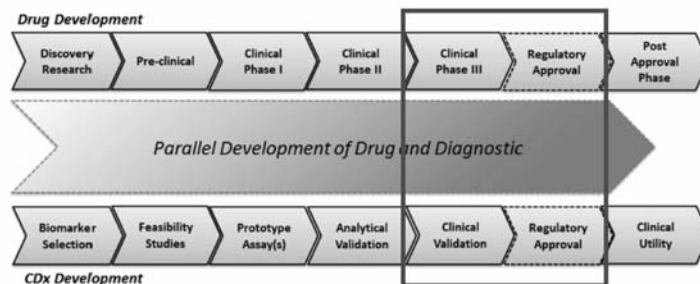
- Qualitative IHC kit system to identify EGFR expression
- Only FDA-approved test for detection of EGFR protein expression
- NICE (National Institute for Health and Clinical Excellence) cost-effectiveness evaluation
- ASCO 2009 Gastrointestinal Cancers Symposium에서 보고된 결과는 “Erbix를 사용하기 위해 환자를 선택하기 위한 KRAS test가 매년 미국에서 \$740million을 절감할 것” 임을 보였다. 이는 CDx가 환자당 \$452로 가정하였을 때 Erbix가 시장점유율 100%임을 가정하기 때문에 실제적으로 과장되었지만, CDx 비용은 약을 처방하는 것에 비해 매우 미비하다는 점에서 의미를 갖는다.



헬스케어 패러다임 전환

글로벌 기술/정책 환경 변화

동반 진단 (Companion Diagnostics):



치료제와 진단제의 동시 개발

- 임상시험과 FDA 승인 절차 함께 추진, FDA 승인 절차 단축
- 유전자 검사를 병행함으로써 임상시험 시 참여 환자를 선택적 배치 - 개발 비용 대폭적으로 감소
- 필요성: 제약과 진단기기가 동시에 고려 되어야 하기 때문에, 이것을 위한 가이드라인이 필요함

Definition

In Vitro Companion Diagnostic Device (IVD CDx, 체외동반진단기기)의 정의

1. 체외동반진단기기는 해당 치료제의 안전하고 효율적인 사용에 대해 필수적인 정보를 제공하는 체외진단 의료기기(주)를 말한다(단순히 질병의 진단 등을 목적으로 하는 체외진단기기는 제외한다).
2. 체외동반진단기기 (In Vitro Companion diagnostic device, IVD CDx or Co-IVD 로 명명 제안)

체외진단기기: 인체 유래 검체의 체외시험을 위해 단독 또는 조합하여 사용되는 진단기기로 환자의 진단, 모니터링 또는 적합성을 판단할 수 있는 정보를 제공하는 것을 목적으로 하는 의료기기로서, 시약, 캘리브레이터, 정도관리물질, 검체용기, 소프트웨어, 관련된 기기, 장비, 기타 물품 포함

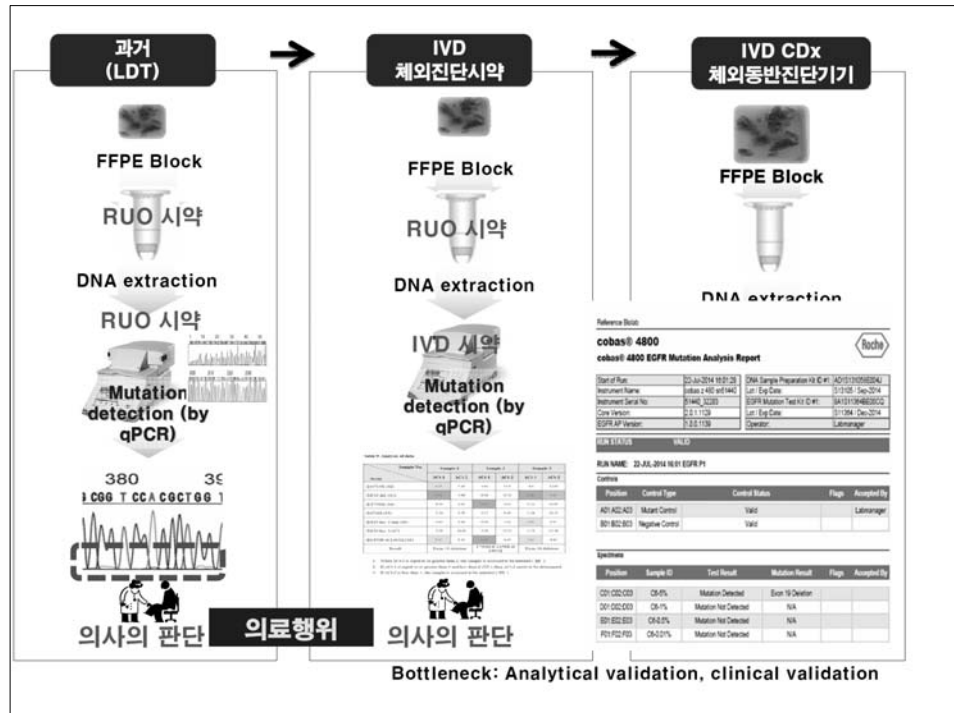
해외에서는 아래와 같이 IVD CDx 를 아래와 같이 명명하고 있음.

- 미국: IVD CDx
- 일본: Co-Dx
- 호주: Co-dependent
- 유럽: CDx

Regulatory Concept

Co-approval

- Companion Dx and therapeutic product depend on each other
- Co-approval required*
- Failure/lack of test approval
= no therapeutic product approval
- * Exceptions will exist



임상적 유효성 및 성능평가

1. Clinical validation(Clinical assessment of test performance)

- Sensitivity
- Specificity
- NPV
- PPV

2. Clinical utility(Risk/ benefit analysis)

- Is there a benefit for patients?
- Could the test be harmful?
- Are there alternative treatments for predicted non-responders?

Case> COBAS 4800 BRAF600 Mutation Test

Clinical efficacy

Efficacy of Vemurafenib in Treatment-Naïve Patients with BRAF V600E Mutation-Positive Melanoma ¹			
	Vemurafenib (N=337)	Dacarbazine (N=338)	p-value ²
Overall Survival			
Number of Deaths	78 (23%)	121 (36%)	
Hazard Ratio (95% CI) ³	0.44 (0.31, 0.59)		<0.0001
Median Survival (months) (95% CI) ⁴	Not Reached (9.6, Not Reached)	7.9 (7.5, 9.6)	
Median Follow-up (months) (range)	6.2 (0.4, 15.9)	4.5 (<0.1, 11.7)	
Progression-free survival Hazard Ratio (95% CI) ⁵	0.26 (0.20, 0.33)		<0.0001
Median PFS (months) ⁶	5.3 (4.9, 6.6)	1.6 (1.6, 1.7)	

Correlation to Reference

BRAF V600E Mutation Test vs. Sanger Sequencing for Specimens from Phase III Study ⁷									
Cobas® 4800 BRAF Mutation Test Result	Sanger Sequencing (Reference Method)								Total
	BRAF V600E Mutation Detected				BRAF V600E Mutation Not Detected				
	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	V600E	
Mutation Detected	216	25	1	0	1	0	0	8	251
Mutation Not Detected	6	13	12	2	0	1	1	164	198
Total	222	38	13	2	1	1	1	172	449
Positive Percent Agreement (95% CI)					216/222 X 100% = 97.30/94.26, 98.80				
Negative Percent Agreement (95% CI)					192/227 X 100% = 84.60/79.39, 88.70				
Overall Percent Agreement					408/449 X 100% = 90.89/87.86, 91.70				

COBAS BRAF : 한국 식약처 승인

[illegible]

사용목적

본 실험은 본교병원 고령 부속의원 본래의 신장 종양군(Malignant)과 양성 신장종양(Benign thyroid carcinoma) 77(C) 조직에서 BRAF V600 돌연변이를 PCR로 증폭하여, 핵산 증폭 기술(Sodium Acid Amplification)으로 정량하는 핵산 증폭 기술(Sodium Acid Amplification)을 이용하여 BRAF V600 돌연변이를 증폭한 결과를 관찰하는데 도움을 주기 위하여 사용된다.

1. COBAS(BRAF) IVD class III, KFDA(2012.12)

사용목적

본 제품은 포르말린 고정 후 파파린 포매된 사람 흑색종(Melanoma)과 갑상선 유두암(Papillary thyroid carcinoma(PTC)) 조직에서 BRAF V600돌연변이 DNA를 핵산증폭법(Nucleic Acid Amplification)으로 정성하는 체외진단분석기를 의미한다.

2. COBAS(BRAF) CDx for Zelboraf(2013.10)

자료요청서 Zelboraf 임상 III상 data 요구

환자에서 Zelboraf(Vemurafenib) 투여를 위해 BRAF V600 돌연변이를 동반한 환자를 선별하는데 도움을 주기 위해 사용된다

→ Zelboraf, KFDA , with predictive biomarker on label
(2012.07)

; BRAFV600E 변이가 확인된 수술이 불가능하거나 전이성인
흑색종

→ Zelboraf, KFDA , with CDx on label(가까운 시일 내)

; 한국 식약처에 승인된 진단법을 사용하십시오.

Zelboraf 의 label 변경 신청 중

국내와 미국의 체외동반진단기기 허가 내용 비교

기업	제품명	CDx Kit			
		MFDS	US FDA		
		사용목적	승인시기	Indication for Use	승인시기
Dako North America, Inc.	DakoCytomation EGFR pharmDx™ test kit (EGFR pharmDx™ Kit, K1494)	세포모종 조직병리검사결과에 따라, 본 제품은 사람의 조직 정상조직에 국한하여 재발의 진단을 목적으로 사용된다. 본 제품은 대장암 환자를 대상으로 ERBITUX™ (cetuximab) 또는 VECTIBIX™ (panitumumab) 처방받아 야 하는 환자를 판단하는데 도움을 준다	2013-07-10	The EGFR pharmDx™ assay is a qualitative immunohistochemical detects the EGFR (HER) protein in EGFR-expressing cells. EGFR pharmDx is indicated as an aid in identifying colorectal cancer patients eligible for treatment with ERBITUX™ (cetuximab).	2004-02-12
Roche Molecular Syst GmbH, Inc.	Cobas 4800 BRAF V600 Mutation Test	악성모종 조직검사서, 본 제품은 모로탈린 고형 후파라핀 조직 정량하는 데에 사용된다. 여기에서, Zelboraf (Vemurafenib) 투여를 위해 BRAF V600 돌연변이를 동반한 환자 선택하는데 도움을 주기위해 사용된다.	2012-12-13	The cobas 4800 BRAF V600 Mutation Test is an <i>in vitro</i> diagnostic device and is intended to be used as an aid in selecting melanoma patients whose tumors carry the BRAF V600E mutation for treatment with vemurafenib	2011-08-17
Roche Molecular Syst GmbH, Inc.	INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail	본 제품은 모로탈린 고형 후파라핀 조직에 정상조직이다 정량하는 데에 사용된다. 여기에서, Herceptin (Trastuzumab)을 이용한 치료 요 고려되는 환자를 판단하는데 도움을 준다.	2012-12-27	The inform HER2 dual ISH DNA probe cocktail is indicated as an aid in the assessment of patients for whom Herceptin (trastuzumab) treatment is considered	
Dako Denmark A/S	HERCEPTEST (Herceptin)™ for Dako AutoAnalyzer, K5207	본 제품은 사람의 유방암 조직에 위양성(위식도, 림프관 위양성 포함)을 일으키는 재발성암으로 확인하는 데에 사용된다. 여기에서, 본 제품은 HERCEPTIN™ (trastuzumab)을 처방받아 야 하는 환자를 판단하는데 도움을 준다.	2013-07-10	HERCEPTEST™ is a semi-quantitative gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma. Herceptin Test TM is indicated as an aid in the assessment of patients for whom Herceptin (trastuzumab) treatment is being considered (see Herceptin™ package insert).	2010-10-19
Roche Molecular Syst GmbH, Inc.	Cobas EGFR Mutation Test	본 제품은 모로탈린 고형 후파라핀 조직 돌연변이를 진단하고 돌연변이 Amplification으로 정상조직에 재발성암을 일으키는 데에, EGFR을 타겟으로 하는 Tyrosine Kinase Inhibitors (TKIs) 투여를 위해, 환자 선택하는데 사용된다.	2012-12-27	The cobas EGFR Mutation Test is a real-time PCR test for human non-small cell lung cancer (NSCLC) tumor tissue. The test is intended to be used as an aid in selecting patients with NSCLC for whom Tarceva™ (erlotinib), an EGFR tyrosine kinase inhibitor (TKI), is indicated.	

↳ 임상시험결과 없이 사용목적에 명기

국내와 미국의 체외동반진단기기 허가 내용 비교

기업	CDx Kit				
	제품명	MFDS		US FDA	
		사용목적	승인시기	Indication for Use	승인시기
Qiagen Manchester, Ltd.	therascreen EGFR RGQ PCR Kit (therascreen EGFR Pyro Kit)	종양관련 유전자 검사시약 : 핵산서열 분석시험 원리를 이용하여 인간 조직 샘플로부터 유래한 genomic DNA에서 인간 EGFR 유전자의 exon18, 19, 20 및 21에 있는 돌연변이를 정량적으로 분석하는 체외진단분석기를 시작이다.	2012-12-27	The test is intended to be used to select patients with NSCLC for whom GILOTRIF™(afatinib) an EGFR tyrosine kinase inhibitor(TKI) is indicated. Safety and efficacy of GILOTRIF(afatinib) have not been established in the patients whose tumors have L861Q, G719K, S768L, exon20 insertions.	2013-07-13
Qiagen Manchester, Ltd.	therascreen KRAS RGQ PCR Kit (therascreen KRAS Pyro Kit)	종양관련 유전자 검사시약 : 핵산서열 분석시험 원리를 이용하여 인간 조직 샘플에서 유래한 genomic DNA에서 인간 KRAS 유전자 코돈 12, 13 및 61의 돌연변이를 정량적으로 분석하는 체외진단분석기를 시작이다.	2012-12-27	The thescreen KRAS RGQ PCR Kit is intended to aid in the identification of CRC patients for treatment with Erbitux® (cetuximab) based on a KRAS no mutation detected test result.	2012-07-00
Roche Molecular Systems, Inc.	Cobas KRAS Mutation Test	유전자 증폭장치용 시약 : 본 제품은 포름알린고정 후 파라핀 포매된 (FFPE) 사람 대장암 (human colorectal cancer, CRC) 조직으로부터 유래된 DNA 중에 존재하는 KRAS 유전자 중 codon 12, 13, 61의 돌연변이를 실시간 유전자 증폭법 (real-time PCR) 으로 검출하는 정성검사용 체외진단분석기를 시작이다.	2012-12-27	cobas KRAS Mutation Test for In Vitro Diagnostic Use Product Usage: Usage: The cobas KRAS Mutation Test, for use with the cobas 4800 System, is a real-time PCR test intended for the identification of mutations in codons 12,13 and 61 of the KRAS gene in DNA derived from formalin-fixed paraffin-embedded human colorectal cancer(CRC).	2011-05-00

국내와 미국의 항암제 허가 내용 비교

기업	항암제 종류 (Generic Name)	항암제				US FDA	
		KFDA		Test 방법	Indications & Usage	승인시기	Test 방법
		효능효과	승인시기				
Genentech	Herceptin (trastuzumab)	○ 유행암 ■ 전이성 유행암 HER2(Human Epidermal growth factor Receptor 2 protein) 양성 전이성 유방암환자 치료에 다음과 같이 투여한다.....	2006/07/19		Herceptin is a HER2/neu receptor antagonist indicated for: •the treatment of HER2 overexpressing breast cancer (1.1, 1.2). •the treatment of HER2-overexpressing metastatic gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma (1.3)	1998	Detection of HER2 protein overexpression is necessary for selection of patients appropriate for Herceptin therapy..... use FDA-approved tests for the specific tumor type (breast or gastric/gastroesophageal adenocarcinoma) to assess HER2 protein overexpression and HER2 gene amplification.

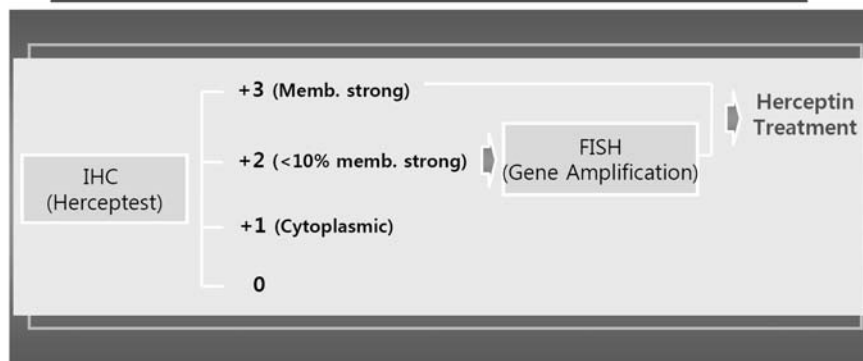
제안: 가정 test 방법

- HER2 단백질 과발현을 detection하는 것은 환자를 selection 하는데 있어서 반드시 필요
- 이러한 승인된 FDA test는 폐암 또는 위암/위식도 선암과 같은 특이적인 tumor 형태에 대하여 HER2 gene amplification에 대하여 평가한다.

체외진단분석기용 시약(IVD)과 동반진단시약(CDx)의 다른 점은 무엇인가?

체외진단분석기용 시약	동반진단 시약
환자 선별 - 임상상의 재량으로 치료제를 위한 적절한 환자 선별 - 치료제의 적절한 용량을 확립하기 위한 환자 선별	환자 선별 - 명시된 방법에 따라 치료제의 효율성과 안전성을 위한 환자 선별
사용 목적에 표기된 테스트로 확인된 속성 예: A 테스트에 의한 EGFR G719A 검출	사용목적에 맞는 치료제 ZZZ 예: Z 테스트에 의한 (EGFR G719A 검출 및 이에 따른) erlotinib 사용

A Real World Example of Biomarker Application



Example of Biomarker Application

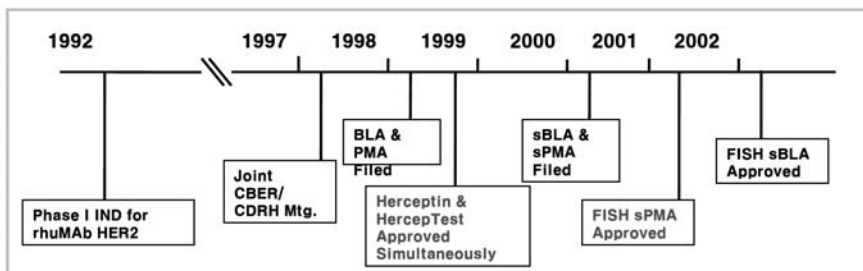
● HERCEPTIN

Pre-approval diagnostics strategy-IHC

- Require commercially available IVD HER2 test for marketing of HERCEPTIN
- Genentech partners with DAKO to develop a commercially available IHC kit
- CDRH/CBER joint meeting defines process for approval of the Rx/Dx combination

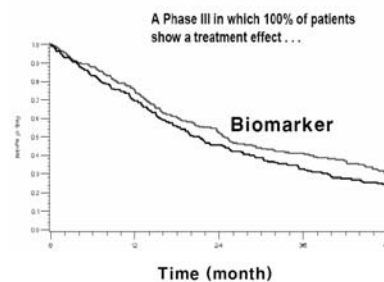
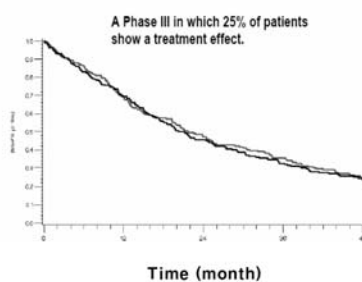
Post-approval diagnostics strategy-FISH

- Response to the medical community
- Post approval commitment to explore alternative methods for patient selection
- Data suggesting that FISH may provided accuracy for selecting patients for Herceptin

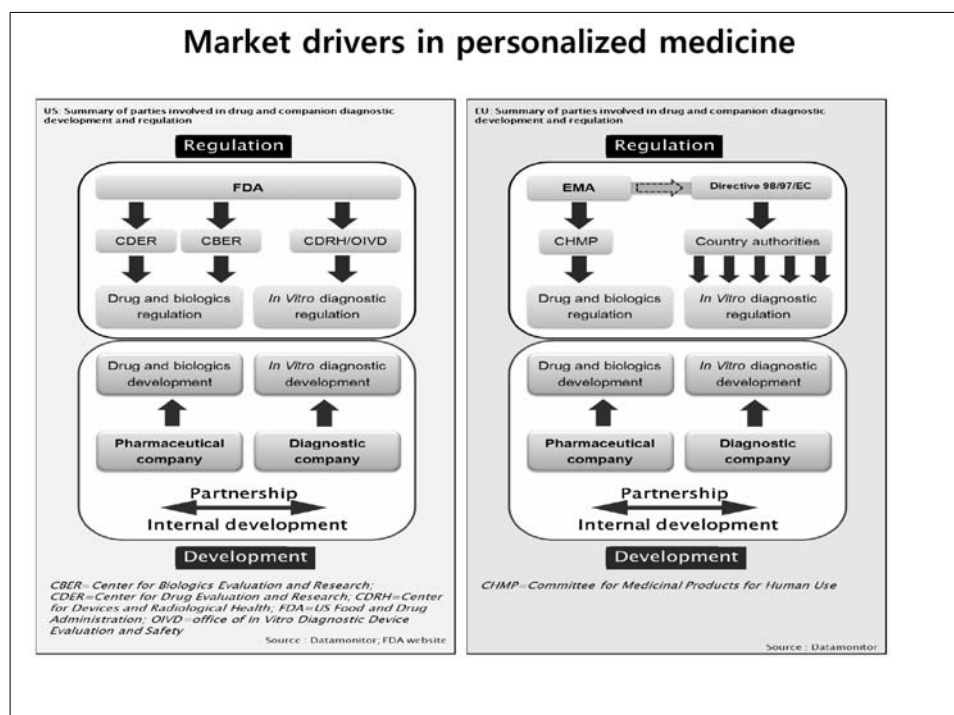
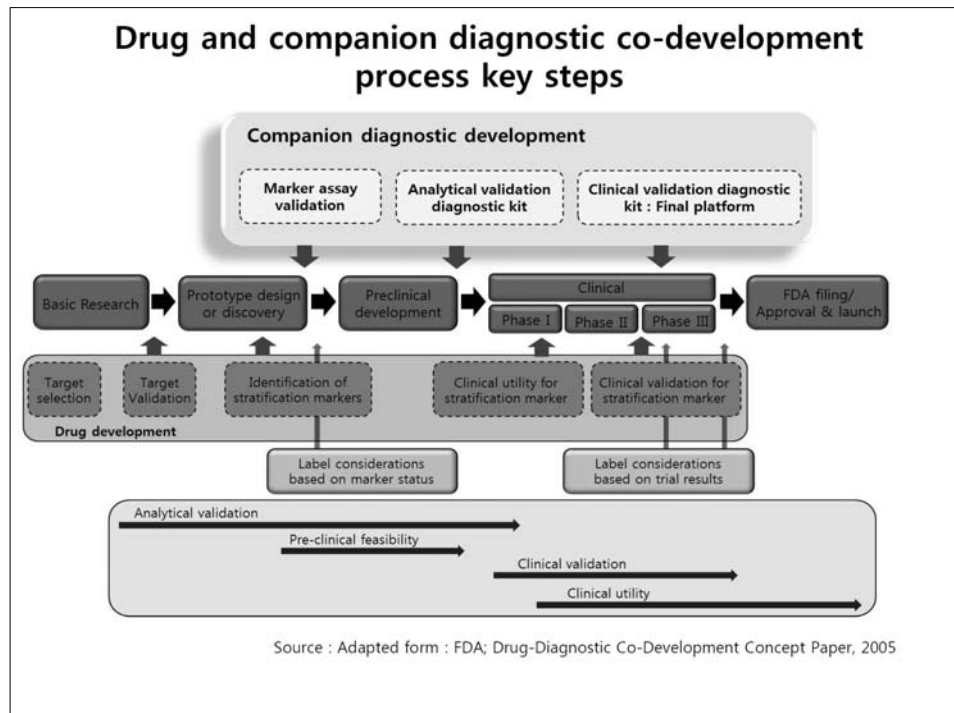


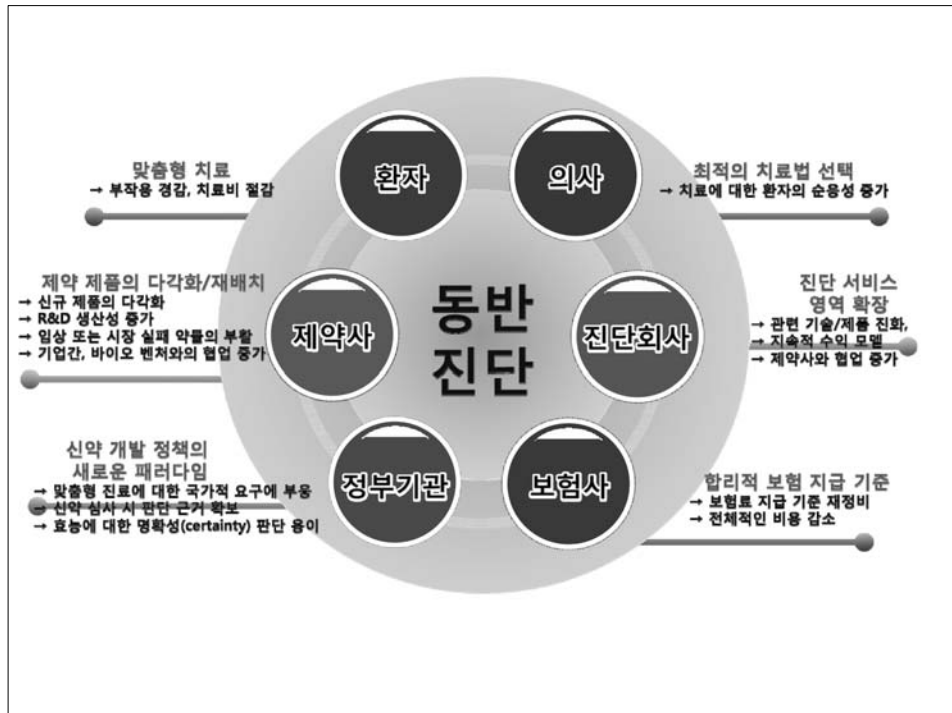
Example of Biomarker Application

● HERCEPTIN clinical trials



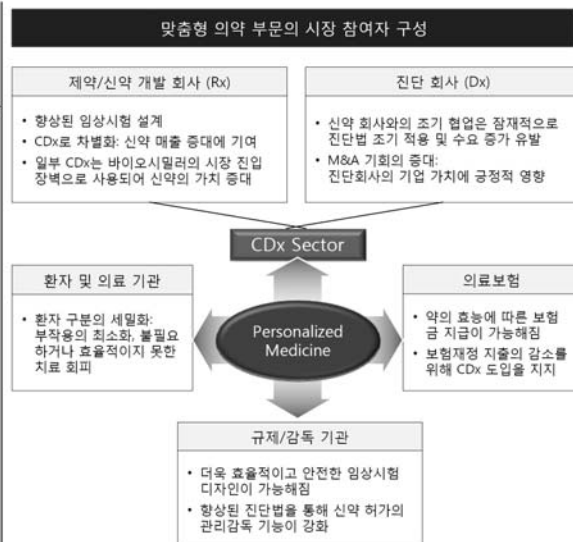
Without selection, a potentially active new therapy could be missed.



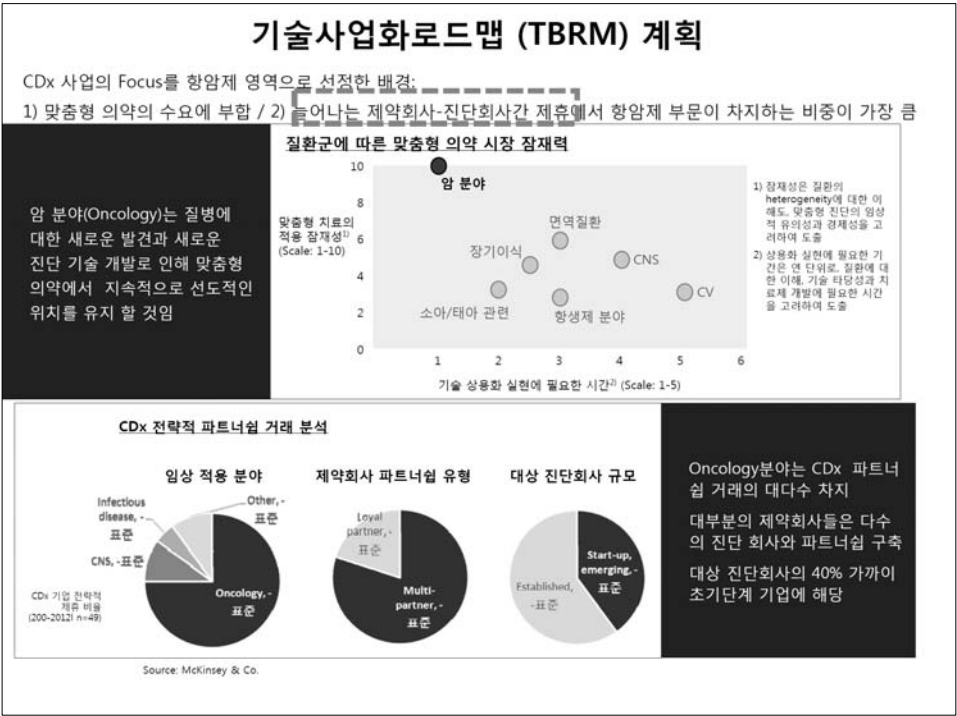


기술사업화로드맵 (TBRM) 계획

- 동반진단 사업단의 구성 및 상용화 전략 실행을 위해 연관 산업의 역학 관계 및 시장 참여자 및 수혜자 조사
- 파악된 시장의 Needs를 고려하여 사업단의 참여기업, 연구기관 및 임상 의료 기관을 전략적으로 선정 및 구성 하였고, 이를 운영하는 사업단 전략 수립
- 연구과제 및 사업화 전략은 시장의 Needs를 반영하여 구성하고 수립



Source: Data Monitor, Deloitte







ddPCR기반 체외동반진단기기의 설계 및 Analytical validation

오 명 렬

(주)Abion CRO Center

ddPCR기반 체외동반진단기기 개발을 위해 디자인 설계는 다음과 같은 사항을 고려해야만 한다.

- 1) 표적항암제의 타겟유전자 및 기허가 제품 분석
- 2) 타겟유전자의 돌연변이 위치 및 돌연변이에 따른 amp의 종류 분석
- 3) 타겟유전자의 돌연변이와 정상형의 미니클론 제작 - Analytical validation 및 positive control로 이용
- 4) ddPCR application guide를 숙지한 후 타겟유전자의 돌연변이를 중심으로 약 60~200bp 이하의 PCR amplicon 크기로, 2차구조가 생기지 않게 primer dimer & hairpin loop 등 확인, GC content가 40~60% 정도가 되도록 만들어지도록 Primer set 디자인 및 합성
- 5) 타겟유전자의 돌연변이와 정상형 시퀀스를 specific하게 검출할 수 있는 Probe 디자인 및 형광물질(Reporter & Quencher 종류를 장비의 spec에 따라) 선택하여 합성
- 6) 장비 사양에 따라 사용되는 template 농도 확인하여 측정할 수 있는 최소 및 최대농도 확인
- 7) 장비 사양에 따라 Tm, Master mix 등의 PCR 조건 결정 시험 및 분석
- 8) 표준물질과 양성/음성물질을 사용하여 얻어진 결과를 장비의 분석 소프트웨어를 사용하여 해석 및 그에 따른 분석 알고리즘 고려 등이 있다.

또한 개발된 최종 ddPCR기반 체외동반진단기기의 Analytical validation은 동반진단 체외진단시약용 기기의 허가심사시 요구되는 제출자료로서 개발제품의 분석적 성능시험에 관한 자료는 다음의 사항을 포함하여야만 한다.

- 1) 분석적 민감도(판정기준치(cut-off value), 최소검출한계, 측정 범위 등)
- 2) 분석적 특이도
- 3) 정밀도(반복, 재현성 등)
- 4) 정확도
- 5) 교차반응

INDEX

1. ddPCR

- 특징 및 원리
- ddPCR work flow
- ddPCR benefits & applications

2. ddPCR기반 체외동반진단기기의 설계

- CDx 개발 디자인
- P/C & N/C 용 MiniClone 디자인
- Primer & Probe 디자인
- Plate format 디자인 & 키트 구성
- 분석 S/W 개발을 위한 알고리즘 디자인


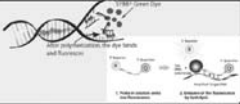

3. Analytical Validation

- 의료기기 제조품목허가를 위한 MFDS 민원신청
- 의료기기 제조품목허가를 위한 구비서류
- 분석적 성능시험 항목

4. 개발제품 실례

1. ddPCR(droplet digital PCR)

(1) 특징 및 원리

PCR 종류		특징	
1 st Generation PCR	conventional PCR	agarose gel 전기영동을 통해 유전자의 정성분석이 가능한 시스템으로, 정량적인 분석 어려움	
2 nd Generation PCR	quantitative PCR (real-time PCR)	상대정량분석을 기반으로 Ct value를 통해 유전자 발현의 정량 및 정성분석이 가능한 시스템이지만 절대정량 분석을 위해서는 표준곡선이 필수이며 PCR의 효율에 따라 결과 값에 편차가 생길 수 있는 단점 존재	
3 rd Generation PCR	digital PCR	Target의 정량을 절대적으로 최대 높은 resolution으로 얻을 수 있음	

a) Conventional PCR



Split sample by dilution

b) Digital PCR

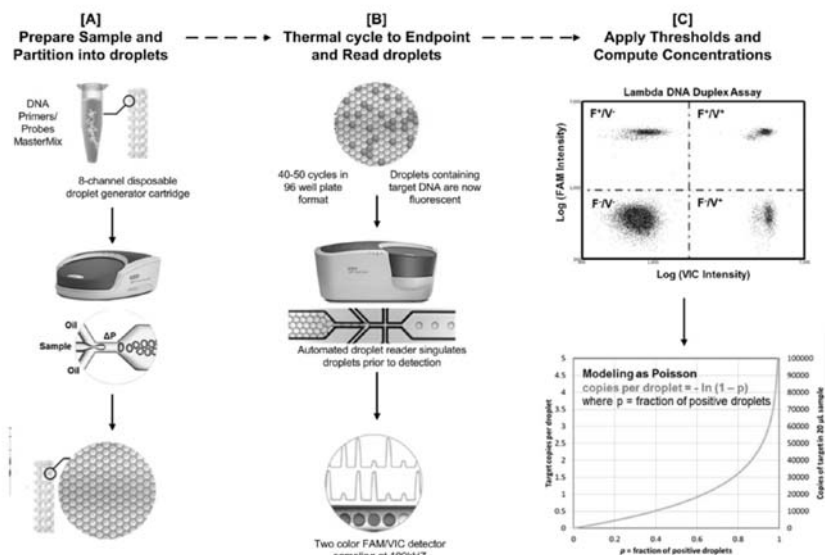


- Digital PCR은 기존의 PCR방법을 개선한 것으로 이것은 직접적으로 핵산(DNA, complementary DNA, methylated DNA, RNA)의 양 확인 가능
- QX200 ddPCR PCR system은 20 μ l의 PCR반응을 1nl의 2만개 droplet으로 쪼개어 증폭 후 target DNA를 계수하는 신개념 기술이 도입된 장비
- 기존 정량 PCR과 달리 standard curve 없이 절대정량 가능
- 기존의 qPCR보다 약 1,000배 높은 민감도와 정확도를 보여주며, PCR 효율에 따른 영향을 받지 않아 항상 일정한 결과 값을 보장

PAGE/1

1. ddPCR

(2) Droplet digital PCR Workflow



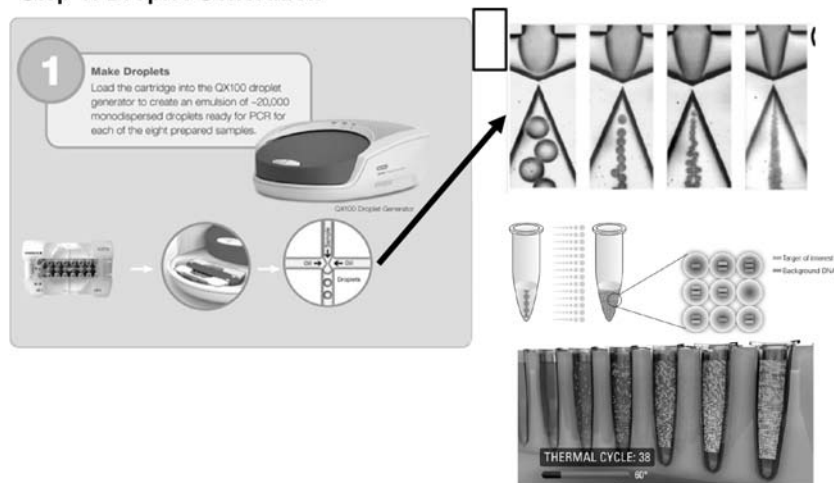
Anal Chem. 2012 Jan 17;84(2):1003-11.

PAGE/1

1. ddPCR

(2) Droplet digital PCR Workflow

Step 1: Droplet Generation



Anal Chim Acta, 2013 Jul 17;787:24–35.

PAGE/1

1. ddPCR

(2) Droplet digital PCR Workflow

Step 2: PCR Amplification of Droplets

2 Perform PCR
Pipet emulsified samples from the cartridge to a 96-well PCR plate. Seal the plate with the PXT™ PCR plate sealer. Perform PCR to end point (40 cycles) using a thermal cycler.

DGE Cartridge

PXT™ PCR Plate Sealer

C1000 Touch™ Thermal Cycler

Step 3: Droplet Reading

3 Read Droplets
Load the plate into the QX100 droplet reader and start your run. Each well is read serially. Droplets are sipped and the singulator unpacks the emulsified droplets and streams them in single file past a two-color optical detection system to determine which droplets contain a target (+) and which do not (-).

Autosampling

Singulation

Droplet Detection

PAGE/1

1. ddPCR

(2) Droplet digital PCR Workflow

Step 4: Analyze Results

4 Analyze Results
ddPCR software reads the positive and negative droplets in each sample and plots the fluorescence droplet by droplet. ~1.4 million droplets are read per 96-well plate. The fraction of positive droplets determines the concentration of the target in the sample.

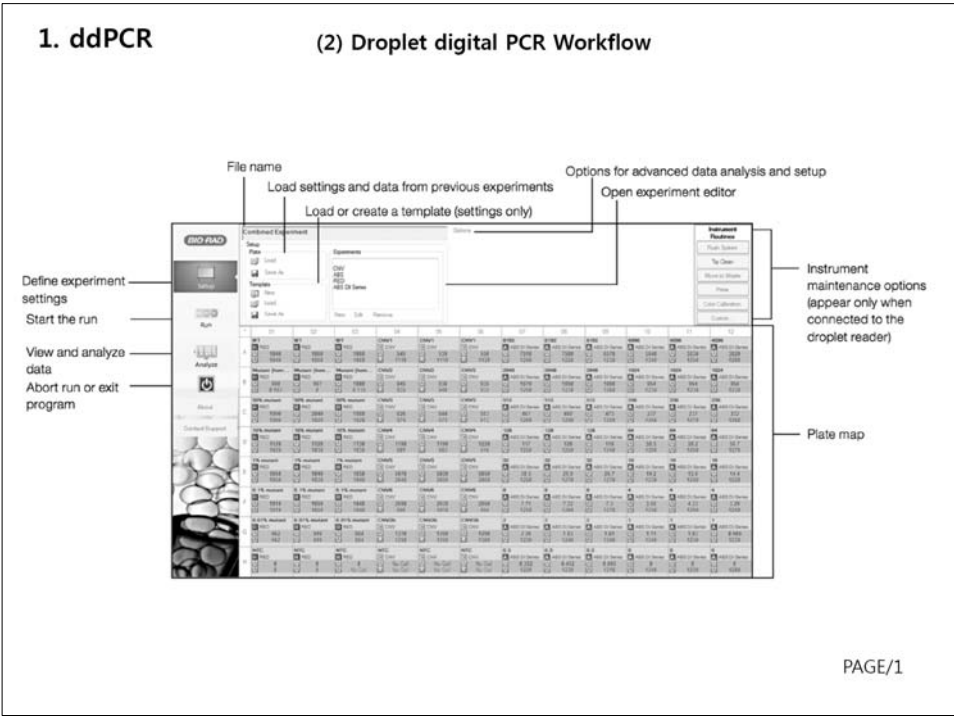
QX100 Droplet Reader

VIC (λ_{exc} 528nm/ λ_{em} 554nm)
FAM (λ_{exc} 494nm/ λ_{em} 522nm)

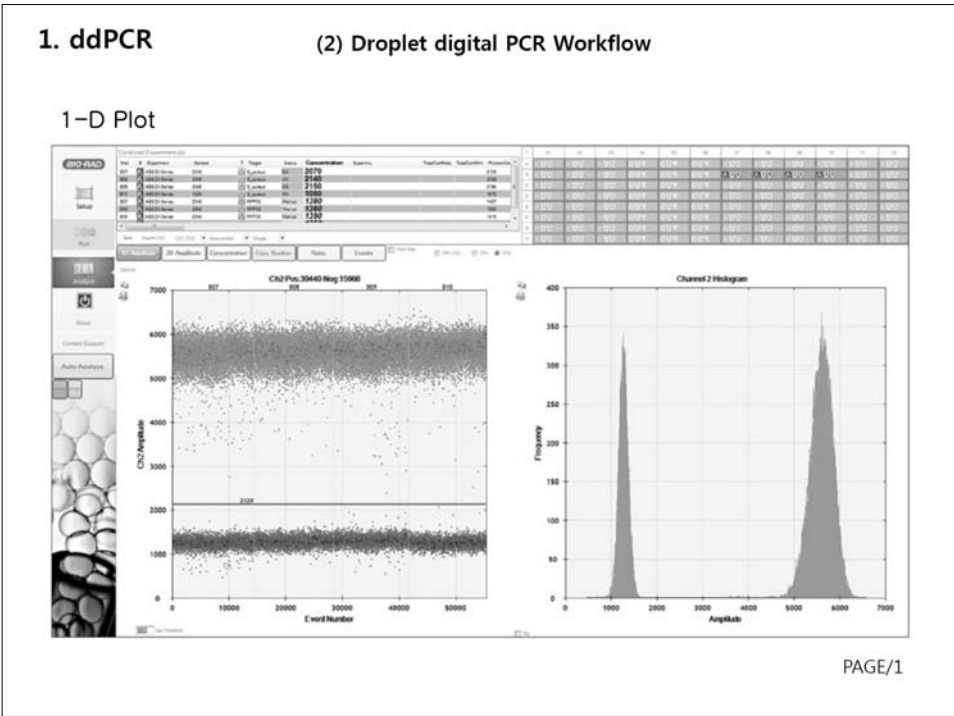
Step 5: Analysis & Visualize Data

5 Visualize Data
ddPCR software allows you to visualize the data in a variety of ways and determine concentrations in copies/μl.

PAGE/1



PAGE/1

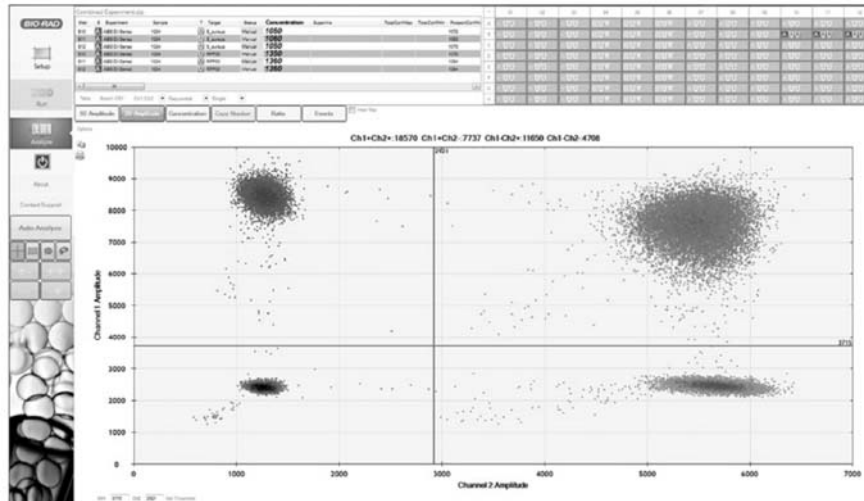


PAGE/1

1. ddPCR

(2) Droplet digital PCR Workflow

2-D Plot



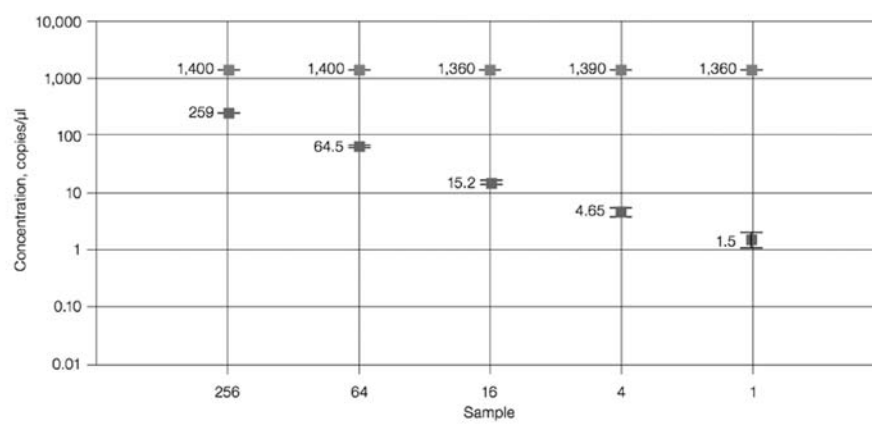
Double negative (gray), FAM positive (blue), VIC/HEX positive (green), double positive (brown)

PAGE/1

1. ddPCR

(2) Droplet digital PCR Workflow

Merged well data

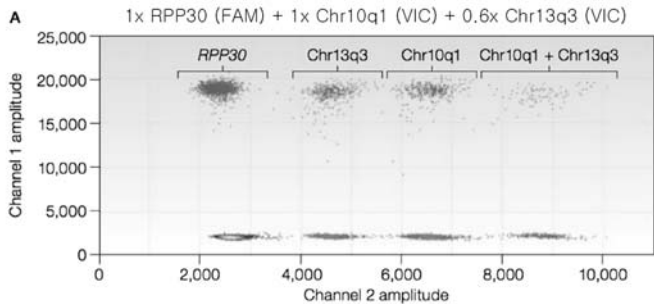


PAGE/1

1. ddPCR

(2) Droplet digital PCR Workflow

Multiplex experiment

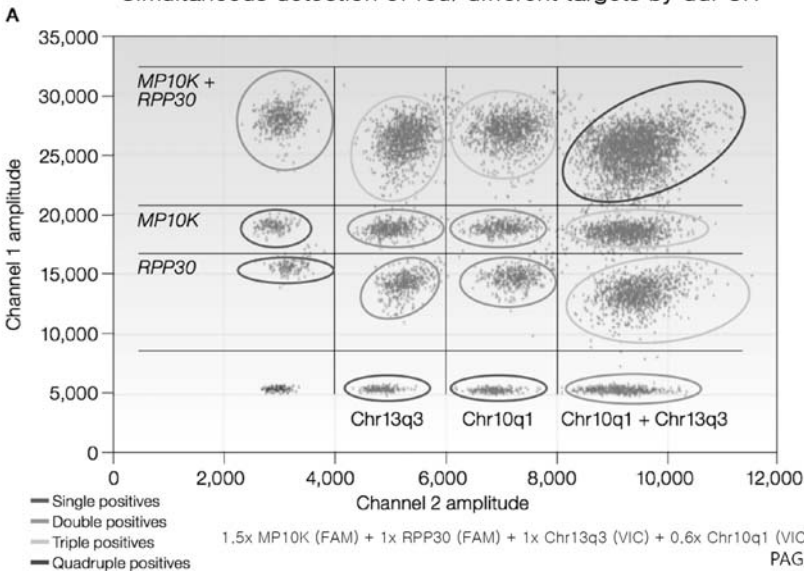


PAGE/1

1. ddPCR

(2) Droplet digital PCR Workflow

Simultaneous detection of four different targets by ddPCR

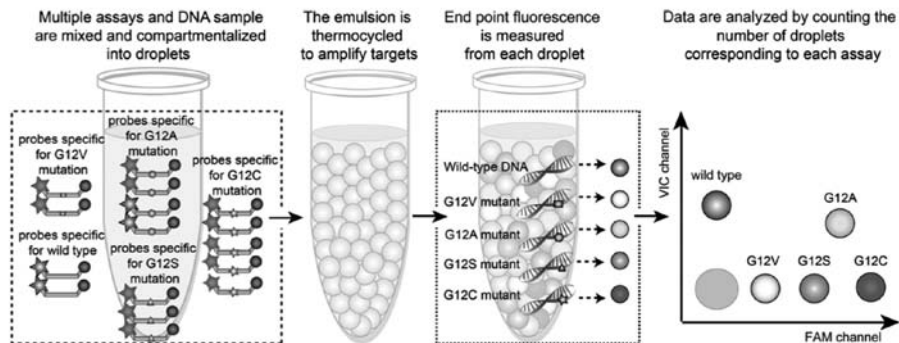


PAGE/1

1. ddPCR

(2) Droplet digital PCR Workflow

Multiplex analysis of circulating tumor DNA: 5-plex assay



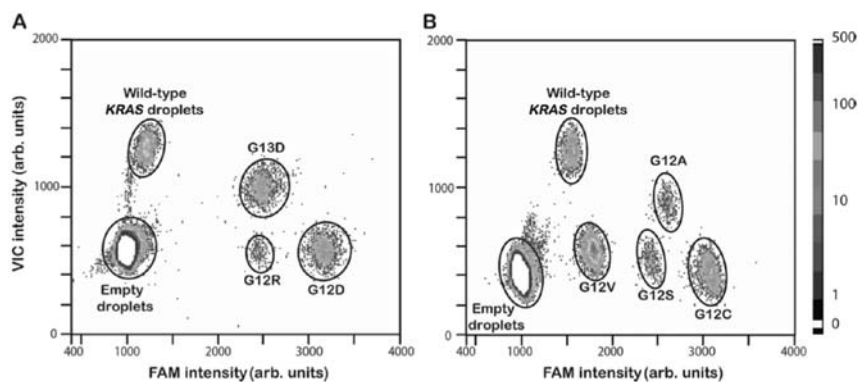
Clinical Chemistry 59:12 (2013)

PAGE/1

1. ddPCR

(2) Droplet digital PCR Workflow

Multiplex assays for mutant KRAS analysis



Clinical Chemistry 59:12 (2013)

PAGE/1

1. ddPCR

(3) ddPCR benefits & applications

Benefits

- ▣ Increased signal-to-noise
- ▣ Removal of PCR efficiency bias
- ▣ Simplified quantification
- ▣ Single template product
- ▣ Reduced reagent cost

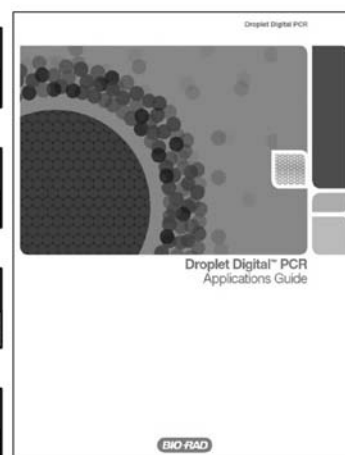
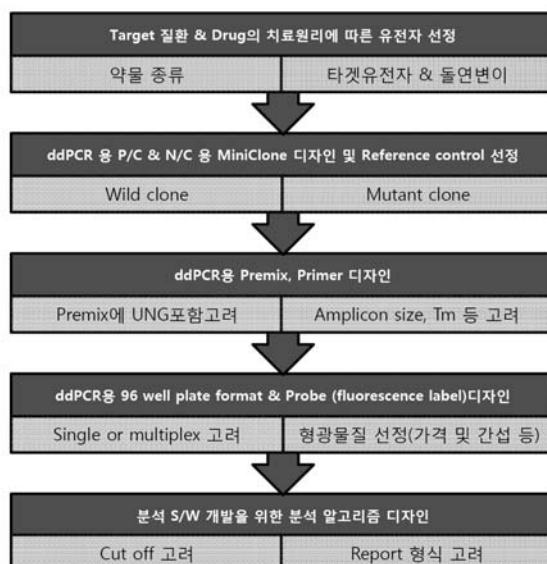
Applications

- ▣ Cancer biomarker studies and copy number variation
- ▣ Pathogen detection
- ▣ Next generation sequencing
- ▣ Gene expression analysis
- ▣ Environmental monitoring
- ▣ Food testing

PAGE/1

2. ddPCR기반 체외동반진단기기의 설계

(1) CDx kit 개발 디자인



PAGE/2

(2) P/C & N/C 용 MiniClone 디자인



Cat#	Cell Line Background	Description	Concentration
HD800	RKO	EGFR Quantitative Multiplex DNA Reference Standard	50ng/uL
HD801	RKO	EGFR Quantitative Multiplex DNA Reference Standard	5ng/uL
HD900	SW48	KRAS Quantitative Multiplex DNA Reference Standard	50ng/uL
HD901	SW48	KRAS Quantitative Multiplex DNA Reference Standard	5ng/uL

PAGE/2

(3) Primer & Probe 디자인

Probe Design

- 50~60% GC content
- 50~65°C Tm
- <http://www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html>
w/ [50mM salt & 300nM oligo]
- Avoid 2nd structure
- Avoid repeats of G or C longer than 3 bases
- Place G & C at the 3' end of primers
- Avoid primer-dimers
- Primer sequences cannot overlap with the probe
- Hydrolysis probe Tm: 3~10°C higher than primers
- <30 nucleotides long
- not have a G at the 5' end
- Black hole quencher or other nonfluorescent quenchers are recommended
- Tm enhancers are recommended for SNP & rare mutation detection assay

PAGE/2

2. ddPCR기반 체외동반진단기기의 설계

(3) Primer & Probe 디자인

Primer3Plus

pick primers from a DNA sequence

Task: **Detection**

```

GTGAGGAGCTCTCTGCGGCTGGCAGAAAGGAGATCTCTTCAGAGCTTTGGCAGCGAGGCTGAGAGAGCGCTCCCTGACCAAGAGG
CGGCAAGAGGAGGAGGCTGCTCTCTCTTCAGAGCTCTGGGAGAGCTTACGGGCTGAGAGCTGCTGGGGGCGACCGAGAGGCT
TCCCTCTGATCCAAAGCTCAATGGGGCTCTCTCTGAGGCTCAACAGGAGAGAGGCTTAAAGGGTCCATCTACGACACGAGAGCTG
TCTTAACTCTTCTATCTTCCACAGAGGTCAGAGGATCCATCAGACAGCCCGAGAGTGTATGATGAGAGGGGCGAAGGCTCTGCGCAG
AAGCTCTCTCTCCGAGGCTCATTTATCTGTTCTGTAGAGAGGCTTCGAGATCTTTTAAAGTAAAGCAAGTCTTCT
TACA

```

Primer3Plus

pick primers from a DNA sequence

Task: **Detection**

```

GTGAGGAGCTCTCTGCGGCTGGCAGAAAGGAGATCTCTTCAGAGCTTTGGCAGCGAGGCTGAGAGAGCGCTCCCTGACCAAGAGG
CGGCAAGAGGAGGAGGCTGCTCTCTCTTCAGAGCTCTGGGAGAGCTTACGGGCTGAGAGCTGCTGGGGGCGACCGAGAGGCT
TCCCTCTGATCCAAAGCTCAATGGGGCTCTCTCTGAGGCTCAACAGGAGAGAGGCTTAAAGGGTCCATCTACGACACGAGAGCTG
TCTTAACTCTTCTATCTTCCACAGAGGTCAGAGGATCCATCAGACAGCCCGAGAGTGTATGATGAGAGGGGCGAAGGCTCTGCGCAG
AAGCTCTCTCTCCGAGGCTCATTTATCTGTTCTGTAGAGAGGCTTCGAGATCTTTTAAAGTAAAGCAAGTCTTCT
TACA

```

Primer3Plus

pick primers from a DNA sequence

Task: **Detection**

```

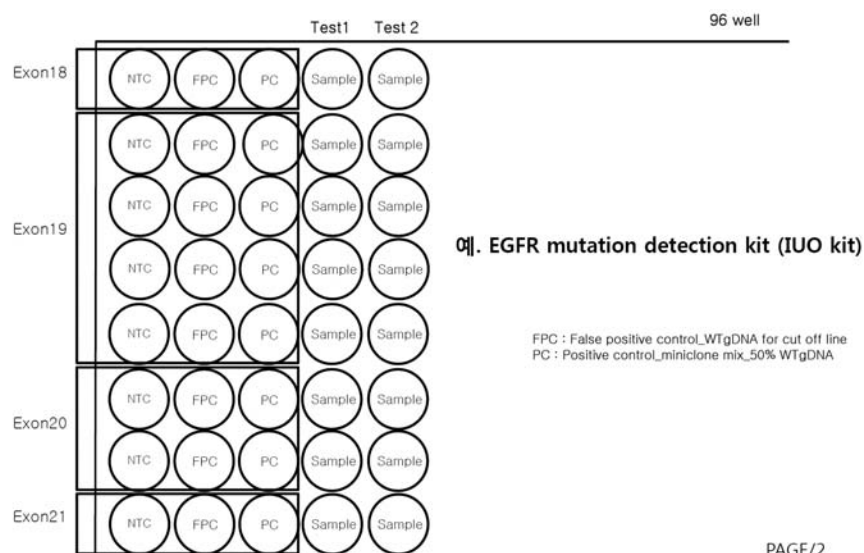
GTGAGGAGCTCTCTGCGGCTGGCAGAAAGGAGATCTCTTCAGAGCTTTGGCAGCGAGGCTGAGAGAGCGCTCCCTGACCAAGAGG
CGGCAAGAGGAGGAGGCTGCTCTCTCTTCAGAGCTCTGGGAGAGCTTACGGGCTGAGAGCTGCTGGGGGCGACCGAGAGGCT
TCCCTCTGATCCAAAGCTCAATGGGGCTCTCTCTGAGGCTCAACAGGAGAGAGGCTTAAAGGGTCCATCTACGACACGAGAGCTG
TCTTAACTCTTCTATCTTCCACAGAGGTCAGAGGATCCATCAGACAGCCCGAGAGTGTATGATGAGAGGGGCGAAGGCTCTGCGCAG
AAGCTCTCTCTCCGAGGCTCATTTATCTGTTCTGTAGAGAGGCTTCGAGATCTTTTAAAGTAAAGCAAGTCTTCT
TACA

```

PAGE/2

2. ddPCR기반 체외동반진단기기의 설계

(4) 96 well plate format 디자인 & 키트 구성



FPC : False positive control_WTgDNA for cut off line
PC : Positive control_miniclon mix_50% WTgDNA

PAGE/2

3. Analytical Validation (1) 의료기기 제조품목허가를 위한 MFDS 민원신청 절차

민원신청 및 처리 흐름도



PAGE/1

3. Analytical Validation

(2) 의료기기 제조품목허가를 위한 구비서류

구비서류	
① 의료기기 제조품목 허가신청서	(의료기기법시행규칙 별지 제3호 서식)
② 기술문서 심사 결과 통지서	• 발행일로부터 2년이 경과되지 아니한 것(전자민원 신청시 제출 생략)
③ 인가검토일 경우	• 기술문서 검토자료 및 허가신청 구비서류 전체
④ KGMP 신청서 사본 또는 KGMP 적합인증서 사본	• KGMP 신청서 사본 또는 당해 품목이나 동일품목군의 KGMP 적합인증서 사본
⑤ 수탁자 조건 증명 서류	• 전공정 위탁일 경우 수탁자 조건 증명 서류(의료기기법시행규칙 별표2 제3호 가목에 따라 제조공정을 전부 위탁받을 수 있는 자에 해당하는지를 증명할 수 있는 서류)
⑥ 시험검사성적서	• 인정규격 대상일 경우 허가신청 구비서류 전체, 의료기기법 제29조에 따른 시험검사기관이 발행한 시험검사성적서(전자민원 신청시 제출생략)

PAGE/1

3. Analytical Validation

(2) 의료기기 제조품목허가를 위한 구비서류

- 가. 기술문서 등의 심사를 받고자 하는 자는 의료기기 시행규칙 별지 제7호 서식에 따라 '의료기기 기술문서 등 심사의뢰서'를 작성
- 나. 첨부자료 등을 식품의약품안전처장이 정한 전용프로그램으로 작성된 전자적 기록매체(CD·디스켓 등)와 함께 제출
- 다. 해당 제품의 특성상 첨부자료의 일부가 불필요한 경우, 그 사유를 구체적으로 기재
- 라. 외국의 자료는 주요사항을 발췌한 한글 요약문 및 원문을 첨부하여야 하며, 필요한 경우에 한하여 번역문을 요구할 수 있음. 다만, 영어 외의 외국어 자료는 공증된 전체 번역문을 첨부

PAGE/1

3. Analytical Validation

(2) 의료기기 제조품목허가를 위한 구비서류

- 1) 식약처장이 지정한 시험검사기관에서 발급한 시험성적서
- 2) 해당 의료기기에 대하여 경제협력기구(OECD) 회원국에 허가 당시 제출되어 평가된 시험에 관한 자료로서 해당 정부 또는 정부가 허가 업무를 위임한 등록기관이 제출받아 승인하였음을 확인한 자료 또는 이를 공증한 자료
- 3) 「의료기기 제조·수입 및 품질관리기준」 또는 이와 동등 이상의 규격에 따른 제조사의 품질관리시스템 하에서 실시된 시험자료
- 4) 대학 또는 연구기관 등 국내·외의 전문기관에서 시험한 것으로서 해당 전문기관의 장이 발급하고 그 내용(전문기관의 시험시설 개요, 주요설비, 연구인력 구성, 시험자의 연구경력 등을 포함한다)을 검토하여 타당하다고 인정할 수 있는 시험자료

PAGE/1

3. Analytical Validation

(2) 의료기기 제조품목허가를 위한 구비서류

나. 기재내용

- 1) 업체명 및 주소
- 2) 시험성적서 일련번호 및 각 페이지와 전체 페이지번호
- 3) 시험검사품의 모델명, 상품명(해당 경우에 한함)
- 4) 시험일자 및 시험성적서 발급일자
- 5) 시험 책임자의 서명 또는 직인
- 6) 시험기준 및 시험방법 단, 규격이 없는 경우 이에 대한 설정 사유
- 7) 시험검사품 채취 및 방법에 대한 사항(시험을 위한 별도 전처리가 필요한 경우에 한함)
- 8) 시험환경요인(시험결과에 영향을 주는 경우에 한함)

PAGE/1

3. Analytical Validation

(2) 의료기기 제조품목허가를 위한 구비서류

다. 추가 기재내용(대학 또는 연구기관 등 국내외 전문기관에서 시험한 자료의 경우)

- 1) 시험시설개요
전문기관의 명칭, 주소, 인증현황, 검사기능 분야, 연구인력구성, 주요설비 목록 등이 기재되어 있어야 함
- 2) 주요설비
시험검사에 사용된 장비명칭, 장비사양, 검·교정 기록서 등에 대한 사항이 기재되고 관련 증빙자료를 함께 제출하여야 함
- 3) 연구인력구성
시험검사를 실시한 전문기관 담당부서에 속한 연구인력들에 대한 정보가 기재되어야 함
- 4) 시험자의 연구경력
시험검사를 실시한 시험자가 해당 검사를 하기에 적합한 전공, 경력 등을 가지고 있는지에 대해 기재하고, 해당 전문기관에서 규정한 요건에 적합한 시험자가 시험하였는지에 대한 자료를 제출

PAGE/1

3. Analytical Validation

(3) 분석적 성능시험 항목

개발제품의 분석적 성능시험에 관한 자료는 다음의 사항을 포함하여야만 한다.

- 1) 분석적 민감도(판정기준치(cut-off value), 최소검출한계, 측정 범위 등)
- 2) 분석적 특이도
- 3) 정밀도(반복, 재현성 등)
- 4) 정확도
- 5) 교차반응

PAGE/1

Thank You

Perpetual Pharmaceutical Pearl Provider

ABION CRO

www.abioncro.com





유체생검 장치의 개발

김 영 덕

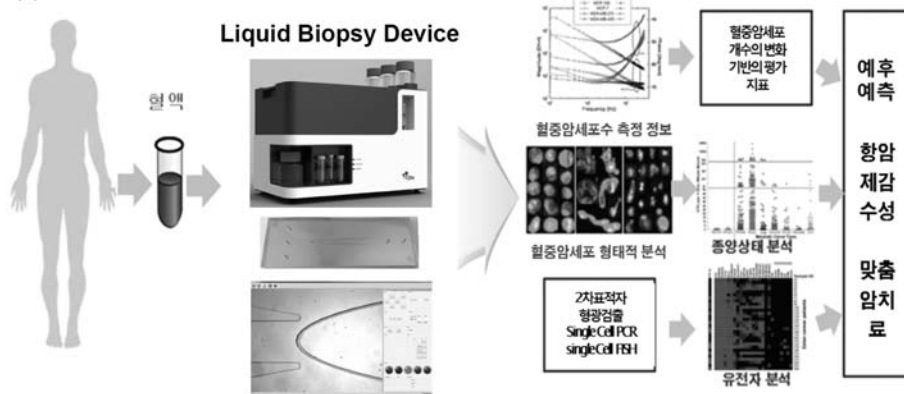
(주)Abion 부설연구소

암 진단 및 예후 예측은 아직 다양한 암에서 해결해야 할 부분이 많으며, 재발 및 전이라는 문제와 불필요한 항암처리 등의 문제로 사회구성원의 삶의 질 하락뿐만 아니라 국가적 경제 손실을 야기한다. 암의 진단이나 예후 예측에서 혈액을 사용한 Liquid Biopsy의 경우 비침습적이며, 편의성이 높아 그 활용가치가 기대된다. 혈중암세포의 분리를 수행하는 액상검침장치의 적용은 단순히 암에 대한 조기 발견뿐만 아니라 분리된 혈중암세포의 추가 분석을 통해 치료 후의 예후 예측, 전이 여부, 재발 여부 판단 및 맞춤형 치료제 제시가 가능한 동반진단의 원천 기술 개발이 기대 된다.

1. 기존의 혈중 암세포 진단 기술들과의 차별성
2. 개발기기의 기능 설명과 활용 범위 및 응용 가능성에 대한 고찰
3. 주요 바이오마커들의 개발과 최적화 및 combination
4. 개발기기의 의료기기 인증방향과 적절성에 대한 고찰
등에 대해서 알아본다.

1. 개발목표 및 필요성

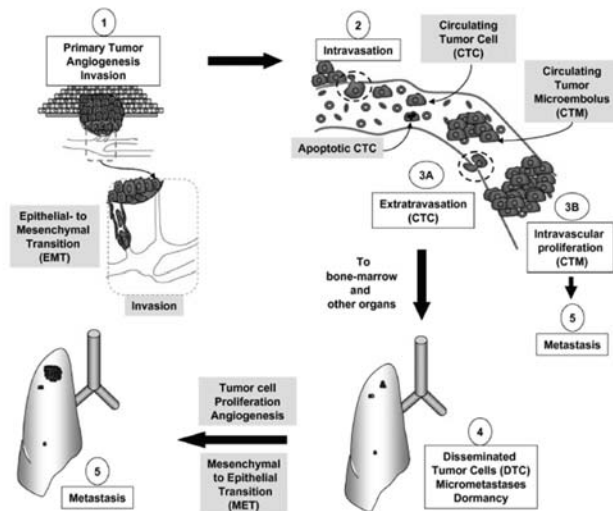
(1) 개발배경



혈중암세포 측정의 임상적 적용과 이를 이용한 Medical Unmet Need의 해결모색
→ 혈중암세포 측정기기를 활용한 환자 맞춤 암 진단 기법의 개발

1. 개발목표 및 필요성

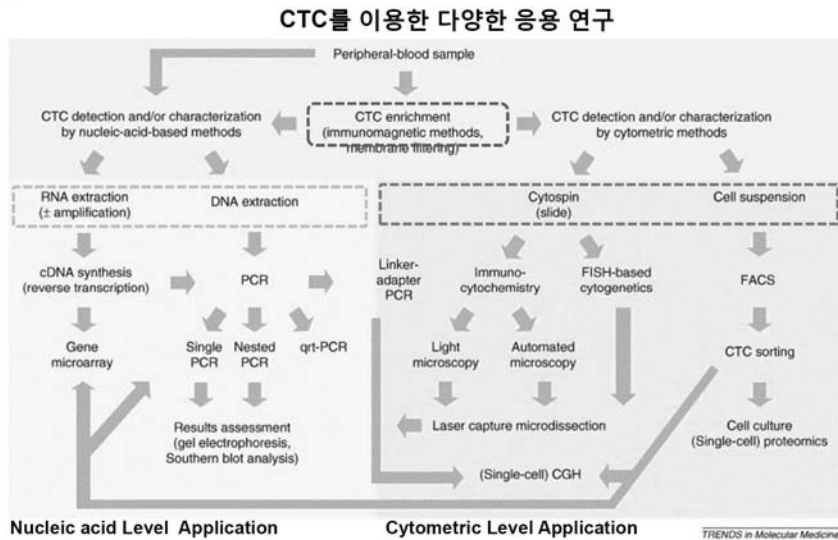
(1) 개발배경



Cancer Letters Volume 253, Issue 2, 18 August 2007, Pages 180–204

1. 개발목표 및 필요성

(1) 개발배경



1. 개발목표 및 필요성

(1) 개발배경



CTC 측정의 한계사항 : 단순한 CTCs 개수의 측정 → 암치료를 큰 도움은 안됨

1) 고 순도의 대량의 Live 세포 확보필요 → CTC, DTC, CIS/CSC 등의 분석가능(RBL/ETRI 기술)

2) PCR, NGS등을 이용 특정 유전자의 Mutation Profile/Panel 등을 검사하여 암 치료의 예후, 예측과 함께 약물 수용성에 대한 정보의 확립 시스템의 개발이 요구됨(RBL기술).

1. 개발목표 및 필요성

(1) 개발배경

많은 혈액 세포들
(약 10억개) 속에서
소량(1-10개)의 혈중
암세포를 골라내
예후와 관련된 의미를
부여해야 한다

해결해야 할 난제

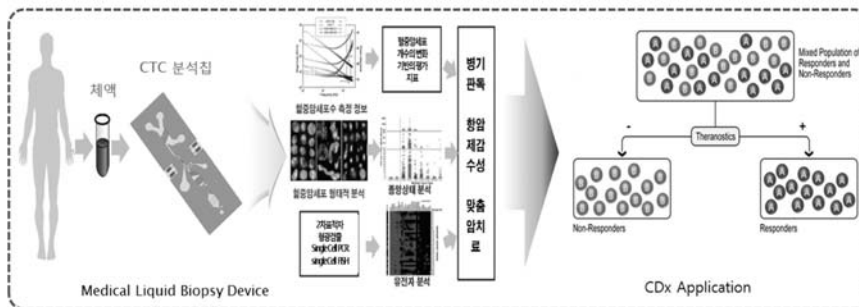
- 소량의 혈중 암세포를 가능한 전부 회수 할 수 있나?
- 분리된 세포들 중 혈중 암세포의 비율이 높은가?
- 샘플 하나를 분석하는데 걸리는 시간은 얼마 인가?
- 칩상에서 다중 특성 분석 기술은 존재하는가?
- 표적자의 제한으로 인해 검출하지 못하진 않나?
- 살아있는 혈중 암세포 분리가 가능한가?
- 예후에 대한 적절한 분석이 가능한가?

난제해결을 위한 아이디어

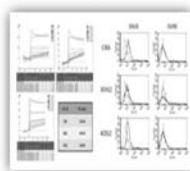
- 암종별 적절한 마커 탐색과 작동의 검증
- 측면자기영동을 이용한 세포분리
- (Viable) 비표지식 분석:
(암종 및 상태 판별)
· 자기장 구배 기반 암종별 분리
- 표지식 분석:
· 고속 형광/광학이미징장비소형화
· 이미징면적최소화(자성물질이용)
- Microfluidics로 집적화 된
On chip 유전자 분석
- 낮은 진단용역에 의한 생존율 향상
- IQ.OQ.PQ 수립 Device 조기 제작

1. 개발목표 및 필요성

(1) 개발배경



Device



Contents

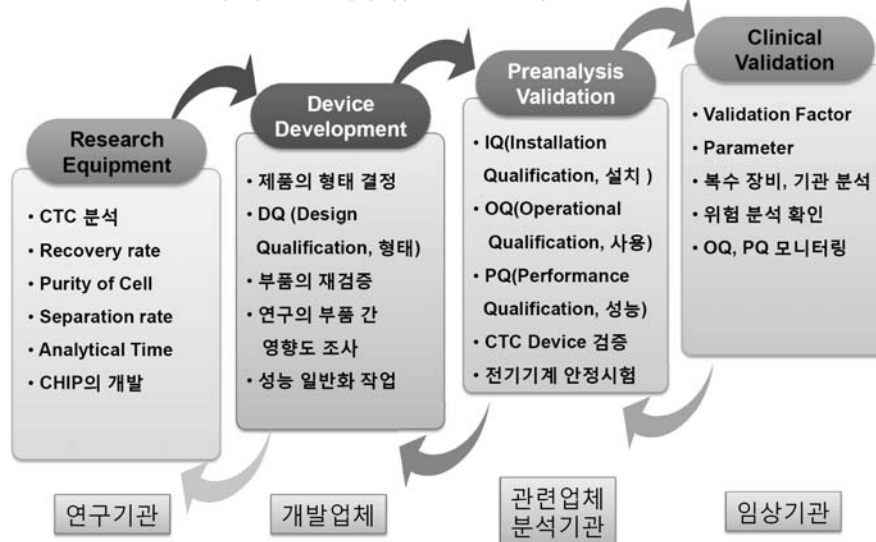


Application for CDx

1. 개발목표 및 필요성

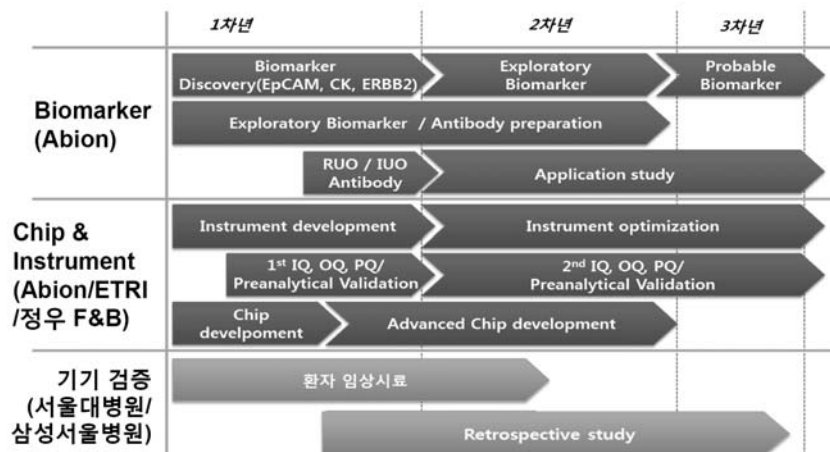
(2) 개발목표

Medical 장비의 검증 및 유효성 평가 Flow



1. 개발목표 및 필요성







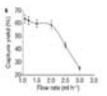
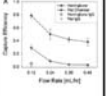
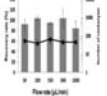

(2) 개발목표



2. 개발 범위 및 방법

(1) 국내외 기술개발 현황

Ref. Cytometry part B: Clinical Cytometry (2011)

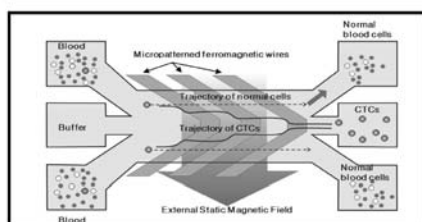
	CellSearch®	CTC-Chip	HB-Chip	MOFF+ DEP	SSA-MOA Filter	Abion/ETRI
Device	Veridex 	MGH (2007) 	MGH (2010) 	Yonsei Univ.(2011) 	Samsung Advanced Institute of Technology 	
Isolation method	EpCAM Ab-Magnetic particle	Coated with EpCAM Ab	Coated with EpCAM Ab	Hydrodynamic + DEP	Size amplification & MOA Filter Chip	Lateral magnetophoresis
Recovery rate	85%	61%	80%	75.8%	~90%	>90%
Purity	1.4%	50%	14%	16%	N.D.	>95%
Recovery time	1hr/7.5mL (whole blood)	~7hr/7.5mL (whole blood)	6.25hr/7.5mL (whole blood)	~1hr/7.5mL (Diluted blood)	~2 hr/1ml (Pretreated blood)	~1hr/7.5mL (whole blood)
Changes in recovery rate based on recovery time and magnetic field	N. D.			N. D.		
Problem	Low purity	Long recovery time, high manufacturing price	Long recovery time, low purity	Low purity, long blood dilution speed	Long pre-treatment time	

2. 개발 범위 및 방법

1) 원천성 : 세계 최초 기술

(2) 개발 범위 및 방법

측면방향 자기 영동 암세포 분리 기술 (Lateral Magnetophoresis)



기술 개요

- 측면 방향의 자기 영동으로 자성 입자가 결합된 세포들만을 선택적으로 분리
- 빠른 분리 속도 획득이 가능
- 세계 최초, 최고 분리 성능 기술 (>95%)

독창성

- 세계 최초, 최고 성능 기술
- 국내/국제 특허 출원
- 국제학회논문 발표

핵심성

- CTC 분리 system의 핵심 : 회수율, 분리 순도 등 기본적인 성능을 결정
- 소형화 및 타기능들과의 집적 용이함

혁신성

- 자성입자를 이용한 분리 기술에 범용적인 적용이 가능
- 구조가 단순하고 사용이 간편
- 낮은 제조단가, 대량생산 가능

2. 개발 범위 및 방법

2) 특허 분석 : 세계 선도 그룹들의 핵심/원천 특허 분석 결과

(2) 개발 범위 및 방법

Veridex 사 (세계 최초 상용화)

[Hardware 관련 대표 특허]

- *Magnetic separation apparatus and methods* (US 7,666,308 B2)
- *Diagnostic imaging device for the analysis of circulating rare cells* (US 7,777,885 B2)

- 셀 이미징을 위해 수직방향의 자장을 이용한 단일 평면 세포 배열 유도 기술
- 형광 이미징 장치에 대한 기술

→ 기술 개발시 특허 침해에 대한 가능성 적음 (회피가 용이함)

Massachusetts General Hospital

[Hardware 관련 대표 특허]

- *Device and methods for enrichment and alteration of circulating tumor cells and other particles* (US 60/703,833 B2)
- *System for cell enrichment* (US 2007/0059680 A1)

- 두 가지 서로 다른 방향으로 유체 제어가 가능한 구조물을 포함하는 세포 분리 장치
- 미세 구조체 어레이를 포함하는 세포 분리 장치에 대해 매우 포괄적인 청구 범위 명시

개발 전략

- 미세 구조체 Array를 이용한 CTC 포획 장치는 MGH의 원천 특허 회피가 어려움
Veridex는 기술적 한계를 극복하기 위하여 MGH와 기술 개발 협약을 맺음 (2011년 1월)
- 차별화된 원천 핵심 지적재산권 확보가 가능한 기술 개발 필요



측면방향 자기영동을 이용한 세포 분리, 계수, 암종 및 상태 분석 기술 개발

2. 개발 범위 및 방법

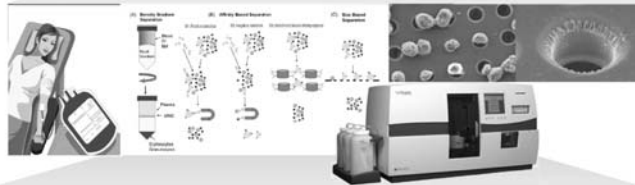
3) 기존기술과의 차별성

(2) 개발 범위 및 방법

기존의 혈중암세포 진단 기법

- 1) 세포의 크기 (membrane filter devices)에 의한 분리법
- 2) 세포의 density 차이(ficoll centrifugation)
- 3) 세포표면 특정 표적자 발현여부를 이용한 검출 (Ep-CAM, CK7/8, CD45)
- 4) Collagen Adhesion Matrix를 이용한 Invasive Potential 가진 세포 검출

개념도



기술의 차별성

Lateral Magnetophoresis를 이용한
Tumor Cell Marker Spectroscopy

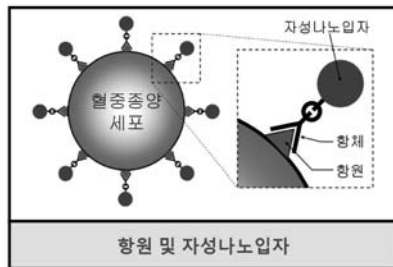
2. 개발 범위 및 방법

3) 기존기술과의 차별성

(2) 개발 범위 및 방법

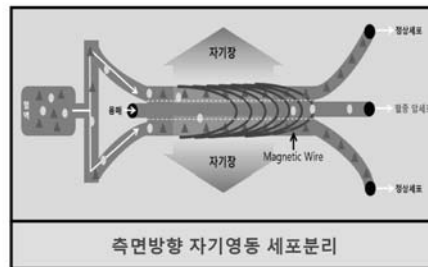
문제점: 소량의 혈중 암세포를 가능한 전부 회수 할 수 있나?

자성나노입자와 측면자기영동기술을 이용한 CTC 분리 기술



항원 및 자성나노입자

- 빠른 분리 속도 획득이 가능
- 암세포 선택적 분리 가능
- 암의 종류 판별 가능
- 강한 자기영동력 유도
- CTC/DTC 등 모든 세포에 적용 가능한 범용기술이다



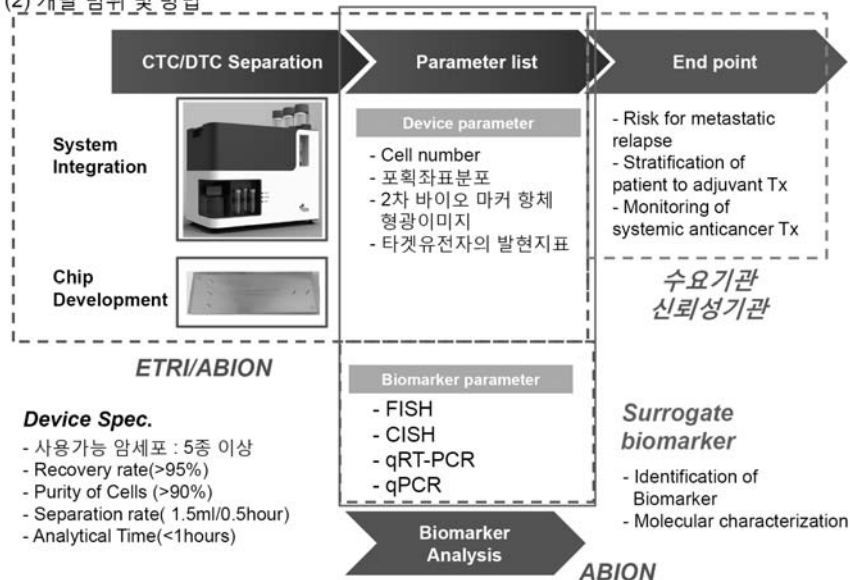
측면방향 자기영동 세포분리

- 전혈 사용 가능
- 빠른 분리 속도 획득이 가능
- 구조가 단순하고 사용이 간편
- 세계 최초, 최고 분리 성능 기술 (>95%)
- 낮은 제조 단가로 대량 생산에 유리
- 타기능과 집적에 용이

■ 국내 및 PCT 특허출원, 미세입자분리기

2. 개발 범위 및 방법

(2) 개발 범위 및 방법



3. 개발 추진 전략 및 체계

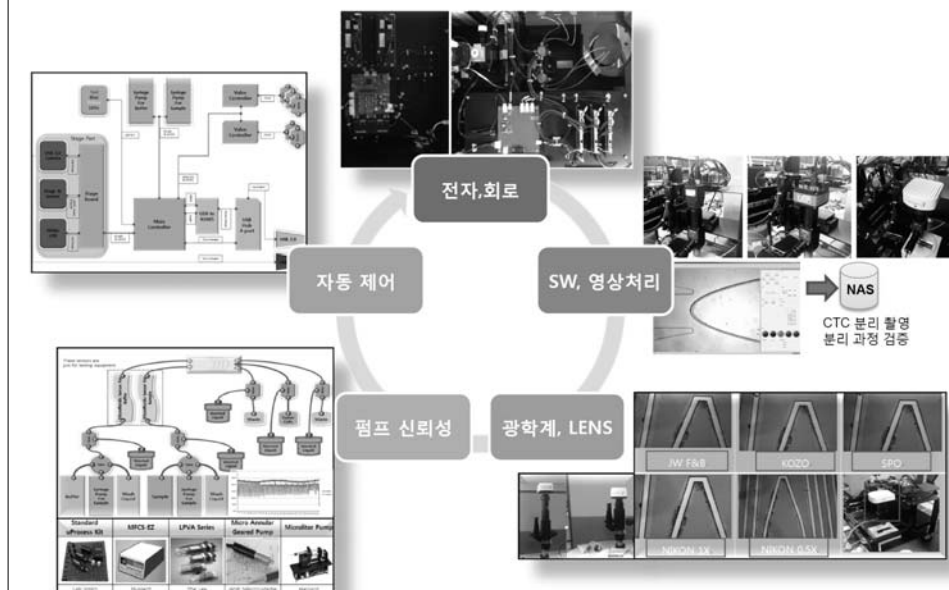
Liquid Biopsy Device 개발

• 개발 요소 분석



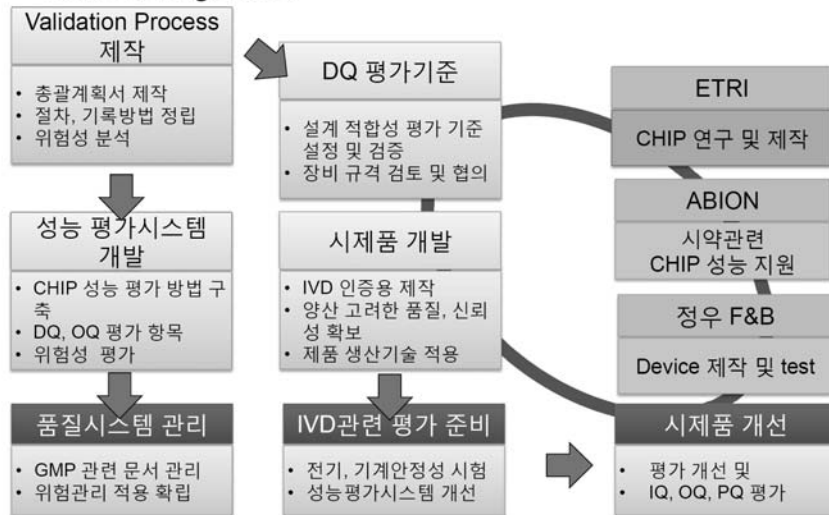
3. 개발 추진 전략 및 체계

Liquid Biopsy Device 요소기술



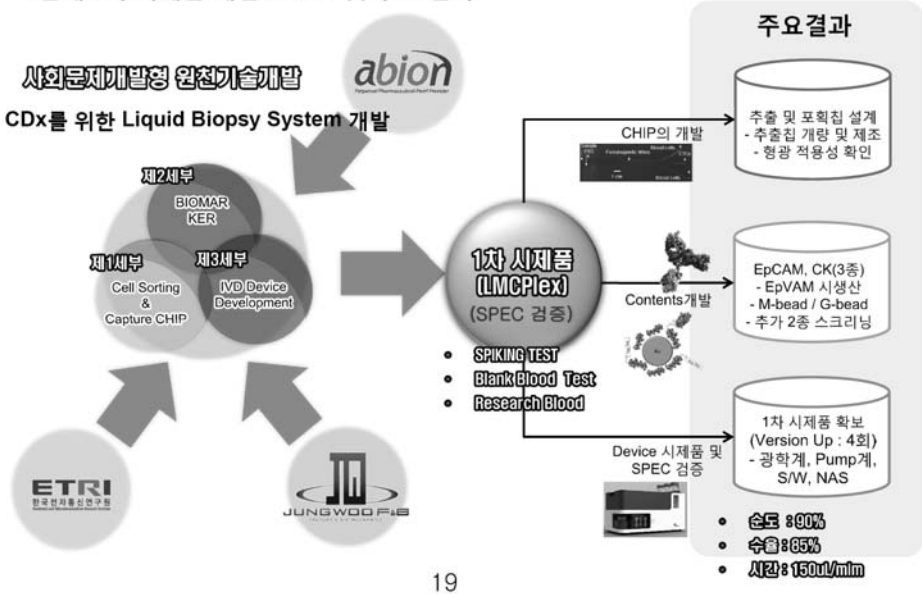
3. 개발 추진 전략 및 체계

Risk management



4. 개발 결과 및 달성도

1단계 1차 시제품 개발 FLOW 및 주요 결과



4. 개발 결과 및 달성도

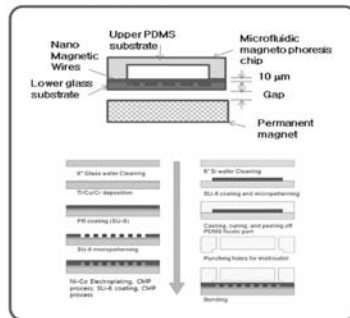
(1) 제1세부 : CTC 추출 및 Capture CHIP의 설계 및 제작

자성 물질을 이용한 혈중 암세포 분리칩 설계 및 제작

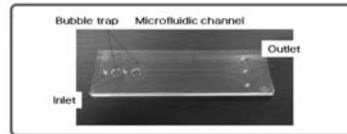
노출된 자성와이어에 세포 분류를 위해 사용한 나노 자성입자 혹은 혈액 내 오염 물질의 침착을 막기 위해 10 μm 두께의 보호 폴리머 막을 형성함

- 오염 방지 및 나노 자성입자의 침착현상 해소함
- 세척 용액에 의한 자성와이어 부식 방지 효과를 확인함
- 칩의 재사용을 가능하게 하였음.

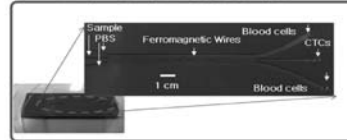
■ 암세포 분리 칩 단면도



■ 암세포 분리 칩 제작 칩 사진

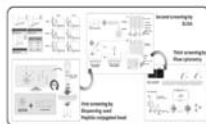


■ 암세포 분리 칩 제작 칩 사진

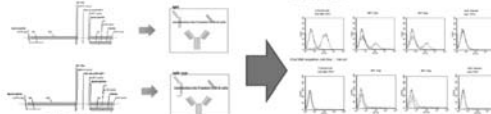


4. 개발 결과 및 달성도

(2) 제2세부 : Liquid Biopsy용 contents의 개발

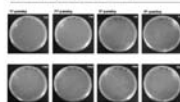


ScFv Screening 과 FACS/ELISA 검증



Full IgG Conversion과 FACS/ELISA 검증

Cytokine & Receptor/Target scFv library



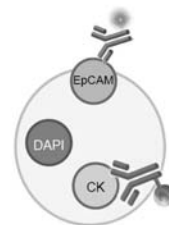
ELISA: 5/10 (2%)

Antigen	Antibody	OD450	Antigen	Antibody	OD450
EpCAM	1	0.15	EpCAM	1	0.15
EpCAM	2	0.12	EpCAM	2	0.12
EpCAM	3	0.18	EpCAM	3	0.18
EpCAM	4	0.14	EpCAM	4	0.14
EpCAM	5	0.16	EpCAM	5	0.16
EpCAM	6	0.13	EpCAM	6	0.13
EpCAM	7	0.17	EpCAM	7	0.17
EpCAM	8	0.11	EpCAM	8	0.11
EpCAM	9	0.19	EpCAM	9	0.19
EpCAM	10	0.10	EpCAM	10	0.10

Antigen	Antibody	OD450	Antigen	Antibody	OD450
EpCAM	1	0.15	EpCAM	1	0.15
EpCAM	2	0.12	EpCAM	2	0.12
EpCAM	3	0.18	EpCAM	3	0.18
EpCAM	4	0.14	EpCAM	4	0.14
EpCAM	5	0.16	EpCAM	5	0.16
EpCAM	6	0.13	EpCAM	6	0.13
EpCAM	7	0.17	EpCAM	7	0.17
EpCAM	8	0.11	EpCAM	8	0.11
EpCAM	9	0.19	EpCAM	9	0.19
EpCAM	10	0.10	EpCAM	10	0.10

후보 선정
1) ELISA
2) FACS
3) SPR

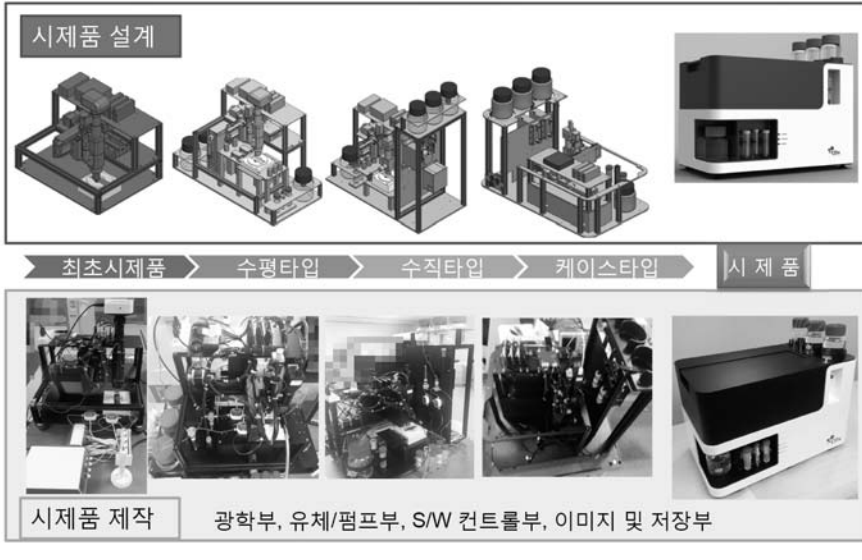
- 1) 항원Design
- 2) scFv library Screening
- 3) Screening
- 4) ELISA/FACS 검증
- 5) Full IgG Conversion



Circulating Tumor Cell (EpCAM +, CK+, DAPI)

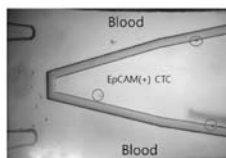
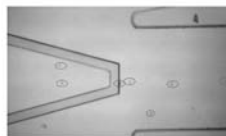
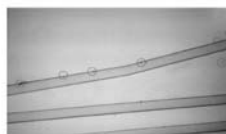
4. 개발 결과 및 달성도

(3) 제3세부 : 시제품의 실제작 과정



4. 개발 결과 및 달성도

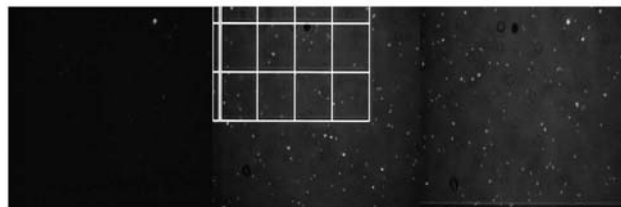
(4) 총괄 : Liquid Biopsy Device 적용 가능성 평가



1. MCF7(EpCAM(+)) 세포주와 다양한 폐암 세포를 대상으로 개발된 Device에서 Spiking Test를 수행하였음
150ul/min 조건에서 4분간 동영상을 촬영하여 MCF7의 Gate통과 세포를 카운트 : ~85% 이상의 수율을 확인함

2. 혈액으로 동일 한 실험을 수행시 순도 역시 90% 이상을 나타냈으며, 혈액으로 인한 수율의 저하는 발견되지 않음

3. 연구용 혈액속의 EpCAM(+) 세포의 존재를 확인하였으며 수행된 검출된 CTC를 대상으로 Live Cell 염색을 수행(존재확인)



4. 개발 결과 및 달성도

연구 성과물

목표 : 논문 2건, 특허 2편, 시제품 제작

실적 : 논문 1편(1편은 작성중), 특허 출원 2편, 시제품 제작 완료, 회의 8회수행

1) 제출 논문



TITLE : Microdevice for Separation of CTC using Embedded Magneto-phoresis with v-Shaped Ni-Co Nanowires and Immuno-nanomagnetic Beads

2) 출원특허(2건)



3) Device 시제품 및 CTC 분리 Kit



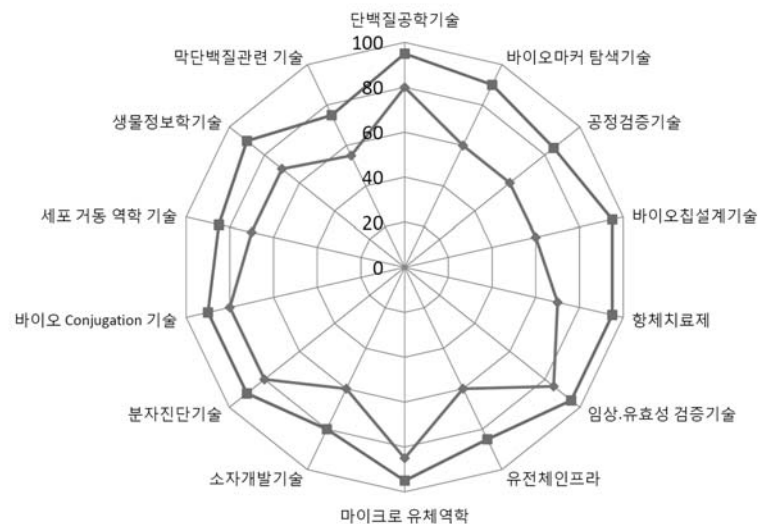
3) 사업관련 회의(총 8회 진행)



4. 개발 결과 및 달성도

· 융합형 기술로서 범용 성 및 성공가능성

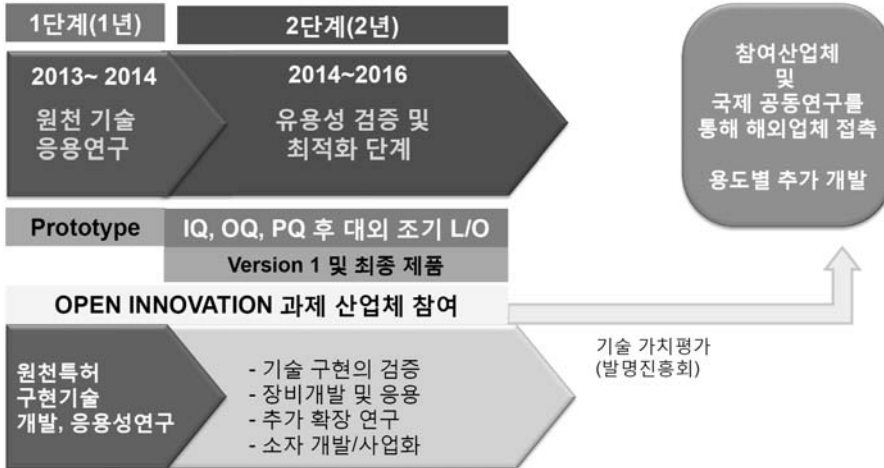
◆개발전 ◆개발후



4. 개발 결과 및 달성도

성공결과를 토대로 범용장비+소자기술을 조기 L/O 한다.

최종 결과물 : 혈중암세포 측정기기를 활용한 환자 맞춤 암 진단 기법의 개발





NGS의 임상적 적용

최 윤 라

성균관대학교 의과대학

차세대 시퀀싱 기술이 도입된 이래, 끊임없는 발전을 거듭하여 현재는 가격은 낮아지고 생산량은 늘고, 에러율이 줄어들었다. 또한, 다양한 플랫폼의 개발에 의해 연구를 넘어서 진단에까지 이용되고 있다. 특히, 차세대 시퀀싱을 이용한 유전질환과 암진단 사례가 급속히 늘고 있다. Bench top sequencer 들의 등장은 신속한 속도를 가능하게 하였고, 진단영역에서 필수조건인 가격경쟁력, 재현성 등에 대한 여러 이슈가 해결 되어 가고 있다. 고전적으로 Sanger sequencing 과 PCR 방법은 암 및 감염성 질환의 유전 변이를 진단하는 도구로 오랫동안 골드 스탠다드로 이용되어 왔으며, 최근에는 마이크로어레이 방법 또한 유전자변이를 확인하는 방법으로 쓰여지고 있다. 차세대 시퀀싱 기술을 이용한 Targeted sequencing 은 타겟 영역만 캡처하고, 증폭 후 시퀀싱 하는 방법인데, 기존의 분자진단 방법과 비교하여 비용대비 효과가 크므로 향후 진단에 많이 이용될 것으로 기대된다.

그러나, 모든 기술이 그리하듯이 연구의 톨로 사용할 때와 달리 진단의 톨로서 임상적으로 사용되기 위해서는 극복해야 할 점들이 있다. 차세대 시퀀싱 기술이 임상에 활용되기 위해서는 아직도 해결해야 할 문제들이 남아있다. 첫째, 데이터 분석방법의 문제이다. 분석방법에 대한 가이드라인이나 스탠다드가 없으므로, 방법에 따라 결과값이 달라지는 문제가 발생한다. 둘째, 컴퓨터 파워이다. 데이터의 양이 기존방법과 비교할 수 없이 많으며, 데이터를 다루고 저장하기 위해 기존과 다른 전문가와 환경이 필요하다. 셋째, 유전적 변이의 해석의 문제이다. 시퀀싱 결과 생산되는 우연한 변이나, 검증되지 않은 많은 변이에 대한 해석과 적용에 대한 문제가 있다. 그 외에도 여러 문제가 있으나, 차세대 시퀀싱 기술은 분자진단이라는 측면에서도 분명 매력적인 기술로 임상적 적용이 더욱 활발해 질 것으로 기대된다.

INDEX

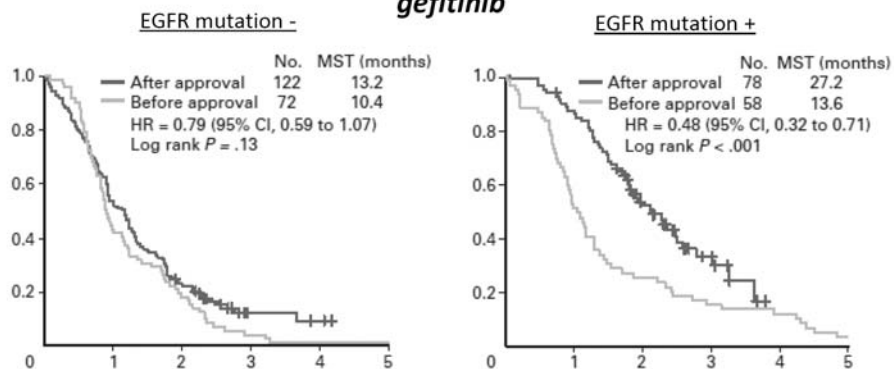
1. 분자진단의 현황 및 문제점

2. NGS 의 현황 및 문제점

3. NGS 의 임상적 적용

1. 분자진단의 현황 및 문제점

Overall survival of NSCLC patients before and after the approval of gefitinib



The retrospective analysis also suggested that gefitinib improved survival of NSCLC patients with EGFR mutations, but didn't in those without EGFR mutations.

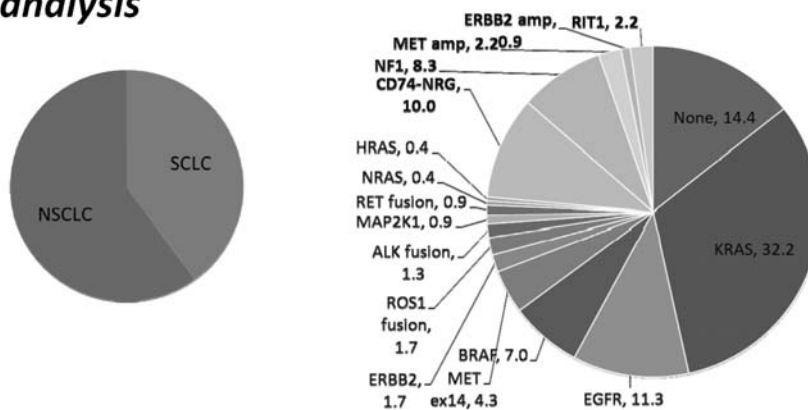
Takano et al, JCO 2008; Vol 26, 5589-5595

1. 분자진단의 현황 및 문제점

Various EGFR mutation tests

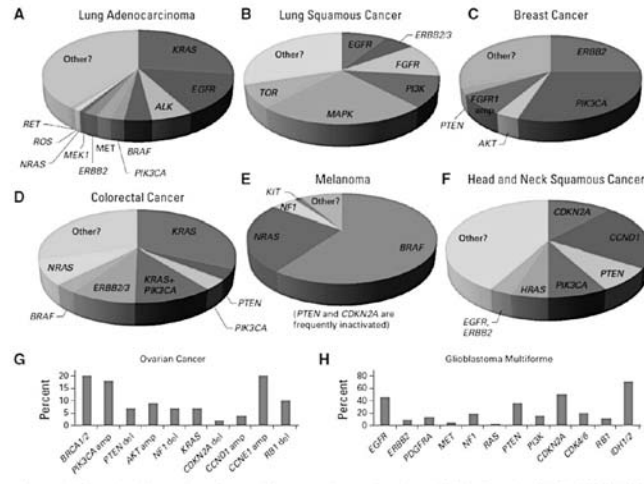
Methods	Limit of Detection	Type of mutation
Direct sequencing	25	Known, unknown
PCR-SSCP	10	Known, unknown
Taqman PCR	10	Known only
Loop hybrid motility shift assay	7.5	Known only
PCR-RFLP	5	Known only
MALDI-TOF based	5	Known only
Pyrosequencing	5	Known, unknown
Length(fragment) analysis	1 ~ 5	—
Cycleave PCR	1	Known only
PNA Clamp	1	Known only
Scorpion ARMS	1	Known only
dHPLC	1	Known, unknown
Single molecule sequencing	0.2	Known, unknown
Mutant enriched PCR	0.2	Known only
SMAP	0.1	Known only
Immunohistochemistry	50	E19 (Del), E21 (L858R)

1. 분자진단의 현황 및 문제점

An expanding cohort of oncogene-positive lung adenocarcinomas with further genome analysis

1. 분자진단의 현황 및 문제점

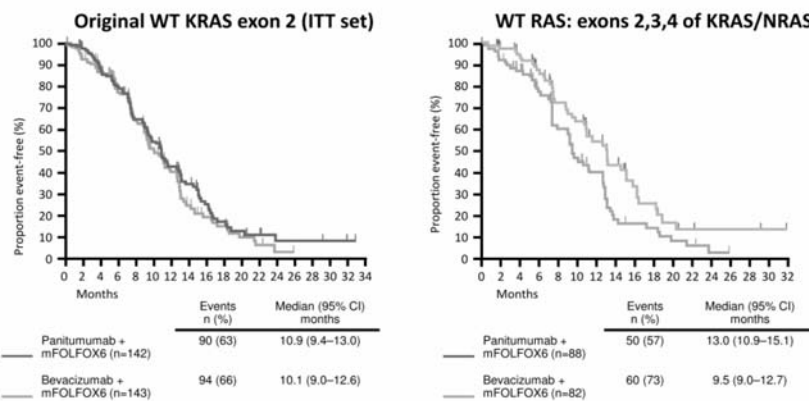
A New Taxonomy of Cancer: From organs to molecules



1. 분자진단의 현황 및 문제점

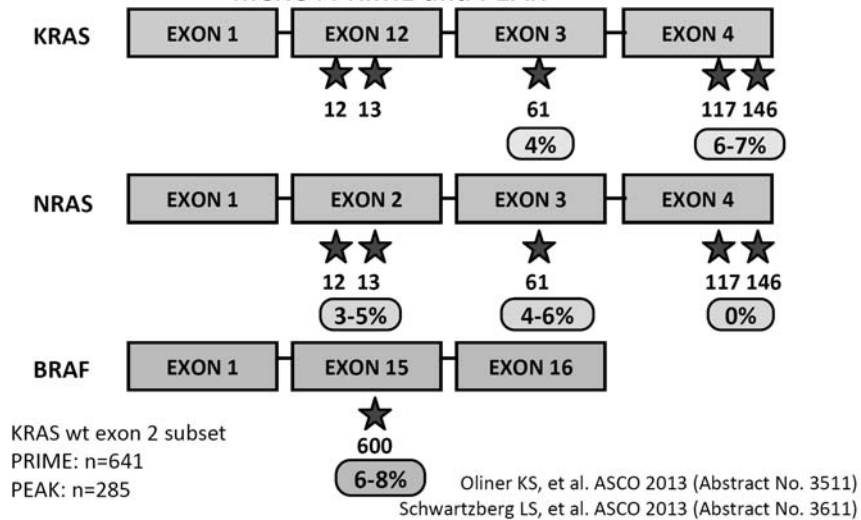
PEAK Trial Biomarker Analysis

PFS in Patients with WT *KRAS* exon 2 and WT *RAS* mCRC



Schwartzberg L, et al. *J Clin Oncol* 31, 2013 (suppl; abstr 3631)

1. 분자진단의 현황 및 문제점

***RAS/BRAF mutations in patients with 1st line KRAS (exon 2) wt
mCRC : PRIME and PEAK***

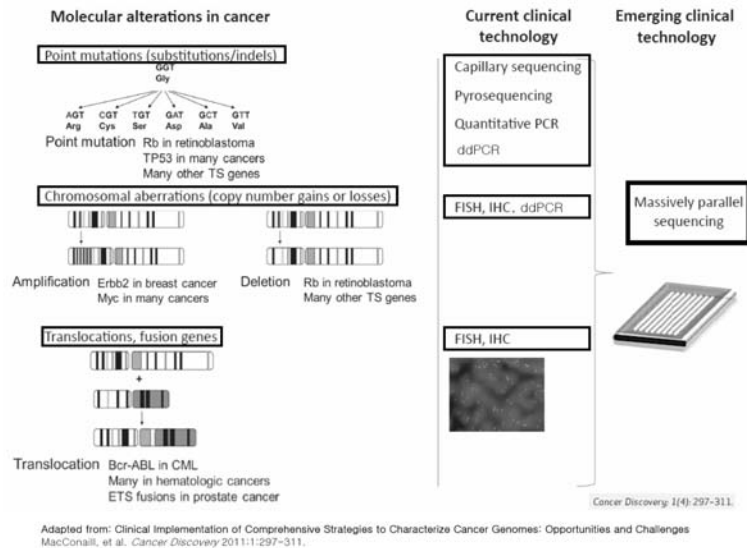
1. 분자진단의 현황 및 문제점

Limitations of Current Testing in Cancer Diagnostics

- Comprehensive prognostic and predictive testing in near future will involve testing at least a few dozen genes
- Various types of genetic alterations (point mutations, small indel, copy number alteration, translocation) need to be evaluate simultaneously
- Limited amount of sample is available for testing
- Various condition of sample (FFPE, cytology, blood) should be tested

1. 분자진단의 현황 및 문제점

Various targets for companion diagnostics



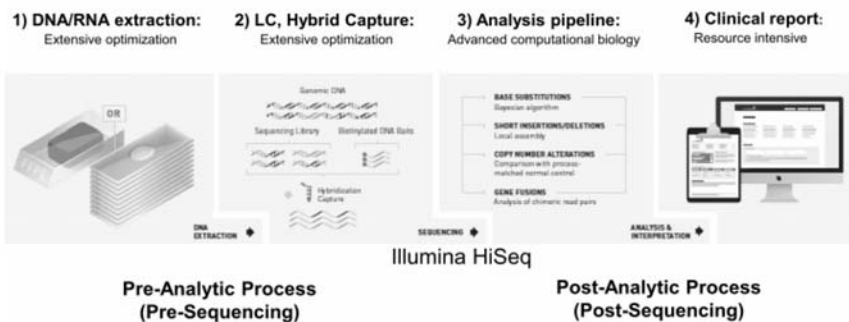
1. 분자진단의 현황 및 문제점

New Paradigm Needed for Genomic Tests

- Thus, a genomic test will need to :
 - Be able to assess many potential alterations at one time
 - Demonstrate high sensitivity to actionable mutations that are present at low frequency
 - Work on limited amounts of FFPE tissue
- And the test will need to be of “**clinical grade**”
 - Minimize false positive/negative results
 - Produce results in a clinically meaningful turn-around time

2. NGS 의 현황 및 문제점

FoundationOne™: Comprehensive NGS-based genomic profiling assay workflow (<14 days)



2. NGS 의 현황 및 문제점

Technical Challenges with NGS Implementation

- Bioinformatics methods for sequence alignment keep undergoing rapid improvements
 - Need to update bioinformatics pipeline at frequent intervals
- Structural genetic variation:
 - Optimal algorithms for detection of copy number variation remain unclear
- Several regions with inadequate coverage
 - Backup Sanger sequencing/alternative methodology necessary for several exons in the context of inherited disorders
 - Sensitivity to detect somatic mutations will not be the same in all the analyzed regions

2. NGS 의 현황 및 문제점

Challenges of Sequencing Clinical Cancer Samples

- Low purity - cancerous cells may only be a minor fraction of total sample
- Heterogeneity – multiple sub-clones of cancer may be present in one tumor sample
 - mutation of interest (e.g., a resistance mutation) may be present in a low abundance sub-clone
- Aneuploidy – chromosomal gains and losses may modify mutation abundance
 - Relevant mutations may be rare in the pool of sequenced DNA

2. NGS 의 현황 및 문제점

Clinical Issues with NGS Implementation

- Interpretation of clinical significance of many variants is unclear
 - Communication of these results to the clinician is problematic
- Incidental genetic findings need to reported and appropriate clinical follow up procedures need to be in place
- Targeted therapies are generally effective “off label”
- Clinical trial paradigms for targeted agents must change given the presence of the same targets across tumors and the infrequent nature of may targets

2. NGS 의 현황 및 문제점

Other Issues with NGS Implementation

- High upfront costs for test validation
 - Substantial reagent costs
- High sequencing run costs
 - Need to batch samples to reduce assay costs
 - Limited ability to repeat samples

3. NGS 의 임상적 적용

- **Clinical Genomics for Cancer Diagnosis and Treatment**

Validation

1. Analytical validation

- Technical assessment of test performance:
 - . Sen, Spe, NPV, PPV, Reproducibility
 - . Laboratory QC
 - . Detection limits

2. Clinical validation

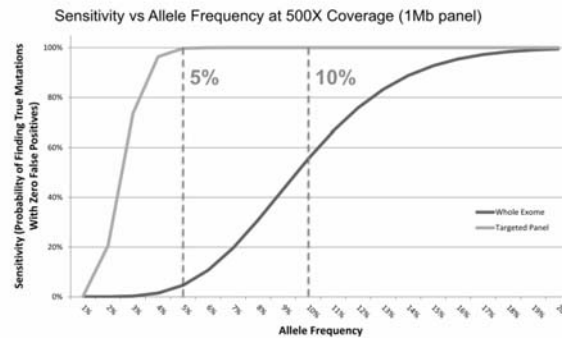
- Clinical assessment of test performance:
 - . Clinical Sensitivity
 - . Clinical Specificity
 - . NPV
 - . PPV

3. Clinical Utility

- Risk/benefit analysis
 - . Is there a benefit for patients?
 - . Could the test be harmful?
 - . Are there alternative treatments for predicted non-responders?

3. NGS 의 임상적 적용

Increasing coverage to 500X allows for >99% sensitivity to detect mutant alleles >5%, with no false positive mutation calls



Deep coverage is necessary for clinical grade samples

3. NGS 의 임상적 적용

© American College of Medical Genetics and Genomics

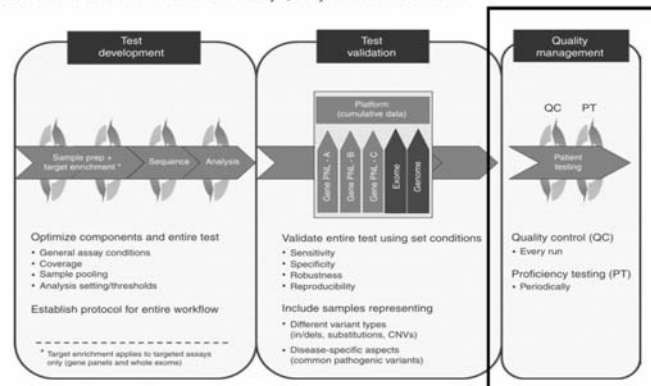
ACMG PRACTICE GUIDELINES

Genetics
in Medicine

Volume 15 | Number 9 | September 2013

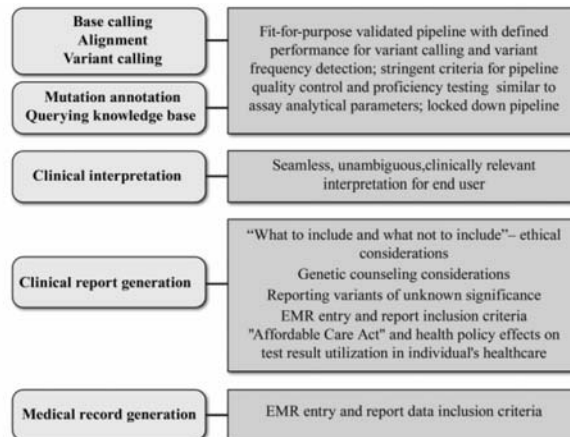
ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing

Heidi L. Rehm, PhD^{1,2}, Sherri J. Bale, PhD¹, Pinar Bayrak-Toydemir, MD, PhD⁴, Jonathan S. Berg, MD¹, Kerry K. Brown, PhD⁴, Joshua L. Deignan, PhD¹, Michael J. Friez, PhD⁴, Birgit H. Funke, PhD^{1,2}, Madhuri R. Hegde, PhD⁴ and Elaine Lyon, PhD⁴; for the Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics Laboratory Quality Assurance Committee



3. NGS 의 임상적 적용

Aspects and key considerations of clinical NGS data reporting

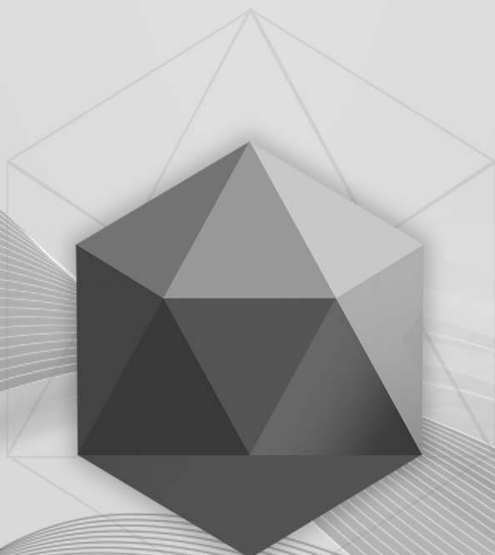


Frontiers in oncology 2014



SESSION II

작장: 신영기 교수, 사회: 최준석 교수





체외동반진단기기의 경제성평가

최 상 은

고려대학교 약학대학

본 연구에서는 항암치료제에 따른 체외동반진단기기의 임상적 유용성과 경제적 가치를 평가하여, 향후의 제품화에 따르는 사회적 가치를 이해하기 위해 경제성평가를 수행하였다. 특히 다음 두 가지 질문에 대해 답하고자 하였으며, 이에 따라 2가지 모형을 구축하였다.

- 1) 현재 국내 보험적용 및 임상에서의 폐암치료패턴을 반영하여 유전자 검사를 하지 않고 치료를 하는 방법과 비교하여 유전자 검사를 실시 후 그에 따른 결과에 따라 치료했을 때의 어느 쪽이 더 비용효과성이 있는가?
- 2) CDx는 기존 검사에 비해 비용효과적인가?

이를 위해 1차년도에는 비소세포폐암 항암제 관련 CDx를 평가하였으며, 평가대상 유전자검사는 TKI 일종인 erlotinib 사용전 EGFR mutation 여부를 검사하는 CDx로 하였다. 유전자검사의 정확도, 항암제 치료의 progression free survival(PFS), overall survival(OS), QALY(quality-adjusted life year), 비용을 결과지표로 하는 Decision analysis를 수행하여 점증적비용효과비(ICER)를 도출하였다.

INDEX

1. 연구목적

- 연구배경
- 연구질문

2. 경제성평가 연구방법

- Study population
- Comparators
- Model
- Clinical inputs
- Costs
- Utilities

3. 분석 결과

- 모델1의 분석결과
- 모델2의 분석결과

1. 연구목적

(1) 연구 배경

- 2011년 폐암은 국내 암발생 중 4위에 해당하며 인구10만명당 조발생률은 43.4건. 5년 생존률은 증가하고 있으나 2011년까지 약 20% 수준이며, 원격전이 환자의 5년 생존율은 5% 수준임. 재발이 많고 완치율이 낮아 다른 암에 비해 사망률이 높아 이로 인한 사회적 비용부담이 큼.
- 비소세포폐암의 경우 3기 이후 항암화학요법으로 치료. 생명연장과 증상 완화가 주요 목적임
- 폐암의 항암화학요법은 1차 치료제로 백금착화합물계 항암제들이 주로 사용되고 있음
- EGFR mutation 환자를 대상으로 하는 표적치료제가 개발되어 EGFR을 억제하여 암세포 성장을 멈추게 하는 약물로 주로 비흡연자, 여성, 선암환자에게 효과적임.
- 국내에서 표적치료제의 체외동반진단기기(IVD-CDx) 활용의 가치 평가는 이루어진 적이 없음
- CDx-IVD는 환자의 특정 biomarker 보유여부에 대한 정보를 제공하여 더 효과적인 치료전략을 선택하는데 도움을 줌으로써, 궁극적으로 NSCLC환자 치료의 효율성 극대화 할 것으로 기대
- 본 연구에서는 NSCLC환자에서 EGFR mutation에 대한 companion diagnostics를 활용한 환자 선별과 이에 근거한 새로운 치료제의 비용효과를 기존의 치료방법과 비교

1. 연구목적

(2) 연구 질문

- ① 현재 국내 보험적용 및 임상에서의 폐암치료패턴을 반영하여 유전자 검사를 하지 않고 치료를 하는 방법과 비교하여 유전자 검사를 실시 후 그에 따른 결과에 따라 치료했을 때의 어느 쪽이 더 비용효과성이 있는가? **[모형1]**
- ② CDx 진단검사들 사이에는 비용효과성 차이가 있는가? **[모형2]**

위의 두 가지 질문에 대해 평가하기 위하여 2가지 모형 구축



THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

2. 분석 방법

(1) 분석대상 및 대상환자

1) 분석방법과 관점

- Health care payer관점을 채택
- 결과지표는 생존과 삶의 질을 모두 고려하는 QALY(quality adjusted life year)와 폐암관련 직접의료비를 추정하는 cost-utility analysis 수행
- 점증적비용효과비(incremental cost-effective ratio) 제시

ICER= Δ cost/ Δ QALY :완전한 건강상태로 1년을 추가로 더 살 때 지불해야 하는 추가적인 비용

2) 대상 환자

항암제 치료 적응증에 해당하는 재발이 있거나 진행성 비소세포폐암 3b와 4기 환자를 대상으로 하였다. EGFR mutation 검사는 TKI의 일종인 erlotinib을 1차 치료제로 사용하기 전에 실시하는 것으로 하였다: Test 군

3) 비교대상

진행성 비소세포폐암 3b와 4기 환자로 1차 cisplatin을 포함하는 항암치료를 받으며, 실패하면 TKI로 치료하는 기존 급여기준에 의한 치료군: No test군

3) 분석 모델

유전자 검사의 정확도와 특이도에 대해서는 decision tree 모형을 적용하고 이후 NSCLC 치료에서 환자가 사망할 때까지는 Markov 모형을 적용하였다. 이때 마코프주는 1개월로 하고 분석기간은 5년으로 하였다.

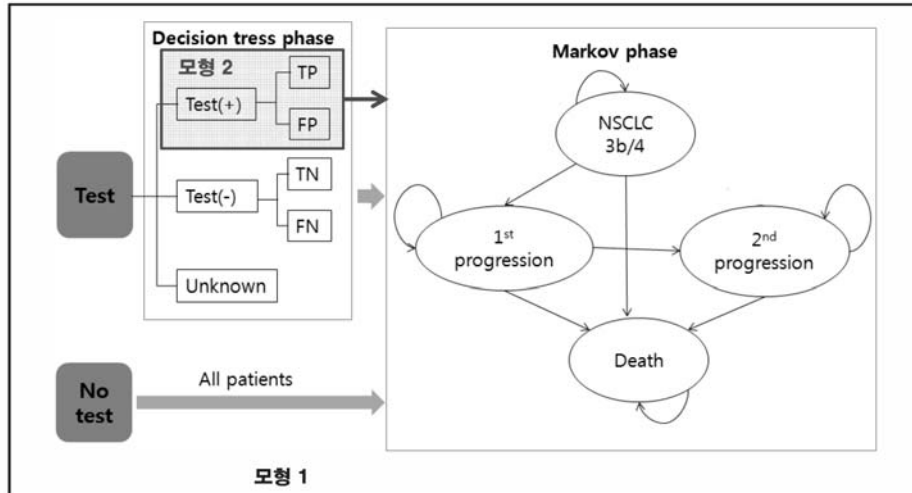


PAGE/2

THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

2. 분석 방법

(2) Model Structure



(주) Unknown: 검체 이상으로 인해 유전자 검사를 하지 못하는 경우 (최윤나 등 11%)



PAGE/2

THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

2. 분석 방법

(3) 데이터 적용식

- 1) 유전자 검사: 민감도와 특이도
 - ▷ 유전자검사 결과에 따른 확률값 적용식
 - $pTP = \text{prevalence} \times \text{sensitivity} \times (1 - p\text{Unknown})$
 - $pFP = (1 - \text{prevalence}) \times (1 - \text{specificity}) \times (1 - p\text{Unknown})$
 - $pTN = (1 - \text{prevalence}) \times \text{specificity} \times (1 - p\text{Unknown})$
 - $pFN = \text{prevalence} \times (1 - \text{sensitivity}) \times (1 - p\text{Unknown})$
- 2) 임상적 유용성: PFS, OS
 - ▷ 모델에 적용 방법
 - 질병의 전이 없이 원래의 건강상태에 남아있을 확률: PFS 적용
 - 질병상태가 진행된 경우: OS-PFS
 - 사망확률: 1-OS
 - ▷ 시간에 따른 변화를 반영하기 위해 Kaplan-Meire 생존곡선에서 직접 얻은 데이터를 사용
 - 데이터 digitizing 프로그램을 이용하여 문헌의 그래프로부터 자료 직접 추출
 - 모델에 필요한 60개월까지의 데이터 추정을 위해 Weibull 분포함수를 추정. Weibull 분포함수의 parameter 추정은 생존곡선에서 얻은 자료에 least square method를 사용하여 얻었다.



PAGE/2

THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

2. 분석 방법

(4) 마름모형에서 NSCLC 치료 패턴

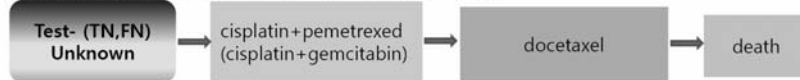
마름모형에서 비소세포폐암의 질병의 전이 과정은 모형의 각 가지에 따라 다음과 같이 진행되는 것으로 가정하였다.

① Test 군(유전자 검사 후 검사결과에 따라 erlotinib을 투여)

▷ 위양성을 포함하여 "Test (+)" 경우 (모형 2의 경우 이 가지만 있음).



▷ 위음성을 포함하여 "Test (-)" 또는 "Test Unknown" 인 경우



② No test군



※ 민감도분석: 1차 항암화학요법으로 cisplatin+gemcitabin, 2차 항암화학요법으로 pemetrexed.



PAGE/2

THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

2.연구방법

(5) Clinical input: Clinical Validity (diagnostic accuracy)

Test	Sensitivity	Specificity	Source
Therascreen EGFR RGQ PCR kit	99.4%	86.6%	Therascreen EGFR label
Cobas	97.1%	88.4%	Benlloch 2014, Lopez-Rios 2013, O'Donnell 2013
DNA endonuclease (SURVEYOR) and HPLC	100.0%	87.0%	Ellison 2013
HRMA	97.3%	95.0%	Ellison 2013 (검사방법들의 평균)
전체 평균	98.4%	89.2%	

- Ellison et al(2013) 등의 유전자 검사 체계적 고찰문헌의 결과를 적용함
- 그러나 FDA에서 CDx로 허가받은 Therascreen EGFR RGQ PCR kit, Cobas는 포함되어 있지 않아서 별도의 문헌고찰을 수행하였음
- 이때 reference standard는 direct sequencing(Sanger sequencing)으로 하여 민감도/특이도 결과만을 사용함
- 한편, 영국의 NICE CDx의 HTA에서는 objective response에 대한 민감도/특이도를 적용하였음. 이를 적용한 민감도분석 수행함 (민감도 79.8%, 특이도 73.7%)



PAGE/2

THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

2.연구방법

(6) Clinical input: Clinical Utilities (clinical outcomes)

- 1) 체계적 문헌고찰
 - 메드라인 데이터베이스를 이용하여 각 branch별로 적용할 전이확률은 별도로 체계적 문헌고찰을 수행하였다.
 - RCT 문헌만을 1차적으로 포함하였으며 RCT가 없거나 제한적인 경우 추가로 single arm 연구를 포함하였다.
 - 연구대상 약제로 erlotinib (or other TKI), chemotherapy 이외의 약제가 포함된 연구는 제한하였다.
 - PFS, OS에 대한 효과지표가 있는 연구만으로 제한하였다.
- 2) 위의 체계적 문헌고찰을 통해 대표성있는 결과를 얻기 위해 단기간의 RCT 연구에서 제시된 survival curve로부터 Weibull 분포에 fitting하여 60개월의 추정생존곡선을 도출했다. 2개 이상 포함된 연구에 대해서는 가중평균값을 적용하였다 (다음 장 그래프).



PAGE/2

THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

2.연구방법

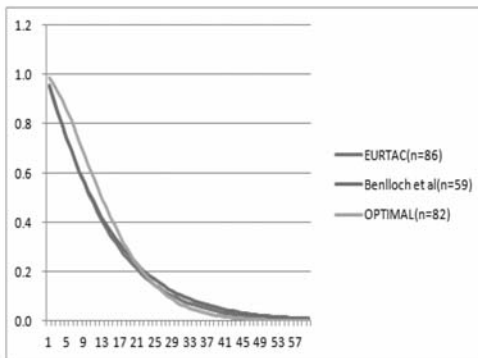
(6) Clinical input: Clinical Utilities (clinical outcomes)

[포함된 임상문헌 목록]

M(+)에서 1차약 erlotinib 효과

EURTAC Rosell 2012; Benlloch 2014; OPTIMAL Zhou 2011

1) [PFS] survival curve로부터 추출



2) [OS] survival curve 제시되지 않음

- HR 적용하여 추정
- EURTAC 1.04, Benlloch 0.86



PAGE/2

THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

2.연구방법

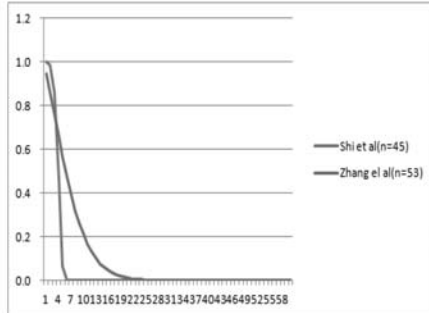
(6) Clinical input: Clinical Utilities (clinical outcomes)

[포함된 임상문헌 목록]

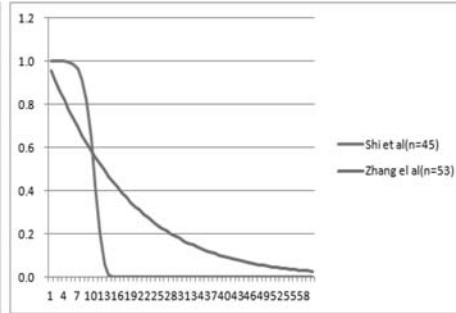
M(+)에서 erlotinib 실패 후 cisplatin+pemetrexed, cisplatin+gemcitabin 효과

Shi 2013; Zhang 2010

1) [PFS] 그래프로부터 추출



2) [OS] 그래프로부터 추출



PAGE/2

THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

2.연구방법

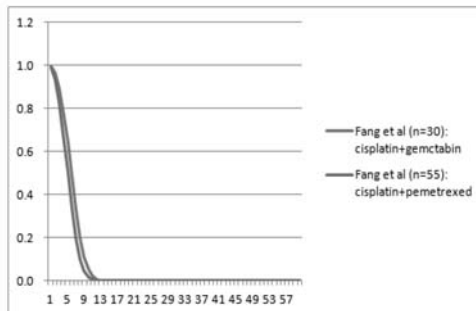
(6) Clinical input: Clinical Utilities (clinical outcomes)

[포함된 임상문헌 목록]

M(-)에서 1차약 cisplatin+pemetrexed, cisplatin+gemcitabin 효과

Fang 2014

1) [PFS] 그래프로부터 추출



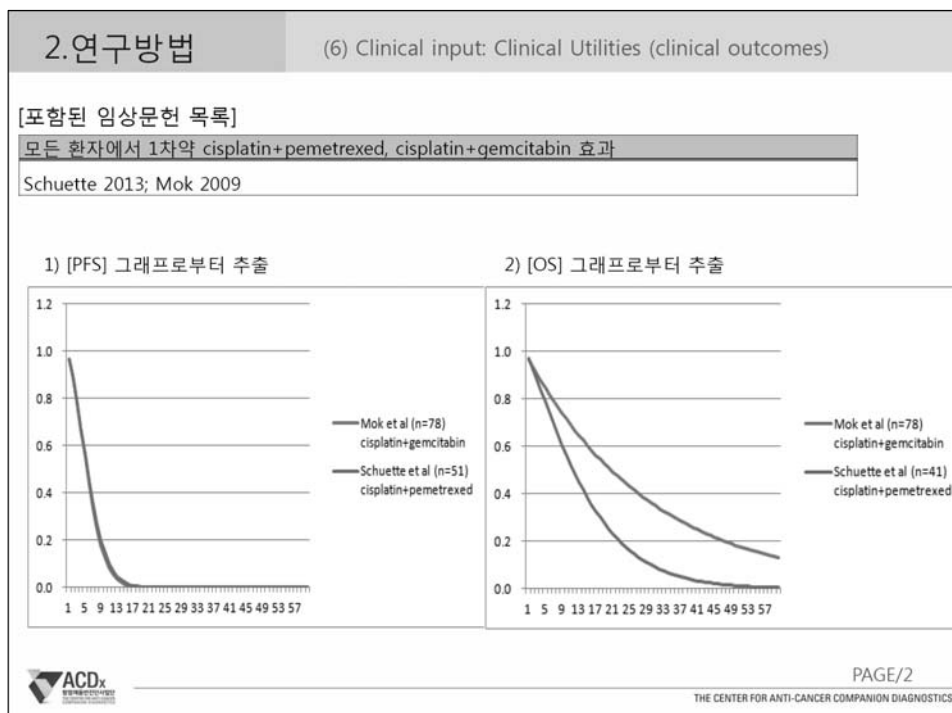
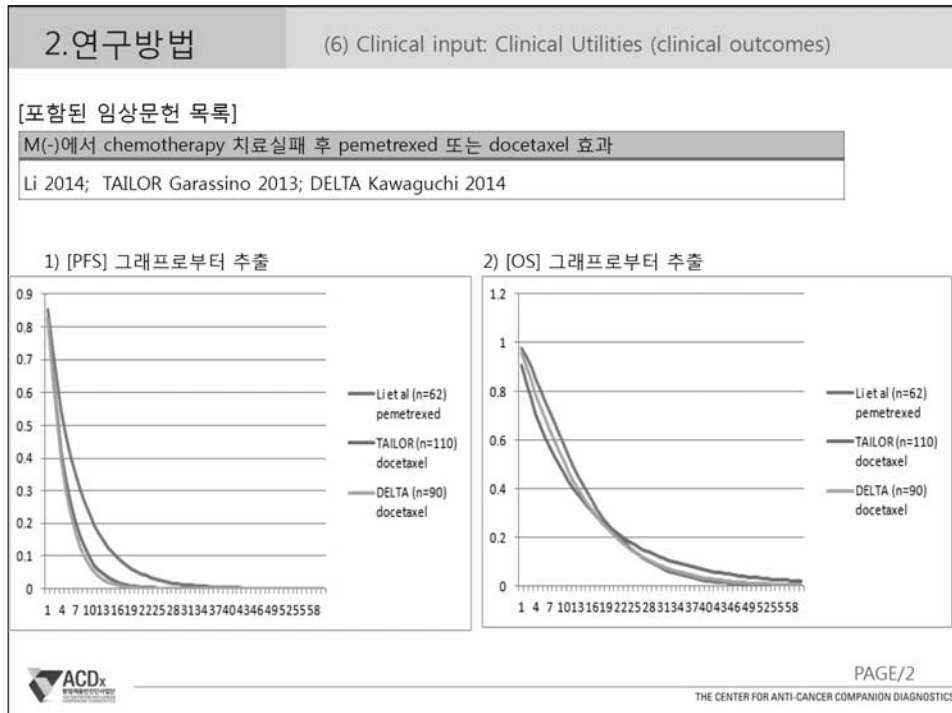
2) [OS] 그래프로부터 추출

- 제시된 자료 없음
- 따라서 no test군의 모든 환자대상의 1차 cisplatin+pemetrexed (Schuette et al.) 결과 사용



PAGE/2

THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS



2.연구방법

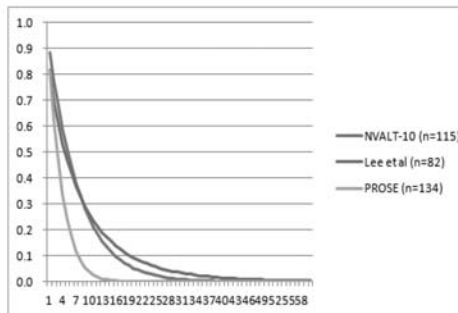
(6) Clinical input: Clinical Utilities (clinical outcomes)

[포함된 임상문헌 목록]

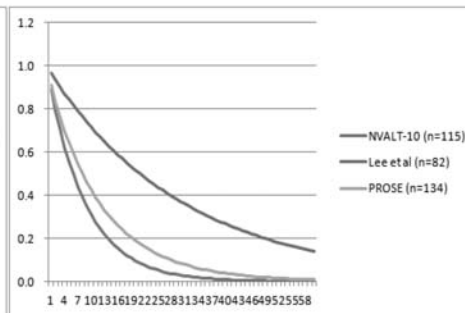
모든 환자에서 CTX 1차 치료실패 후 erlotinib 효과

NVALT-10 Aerts 2013; LEE 2013; PROSE Gregorc 2014

1) [PFS] 그래프로부터 추출



2) [OS] 그래프로부터 추출



PAGE/2

THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

2.연구방법

(7) Costs

	기본분석	민감도분석		출처
	모든 기간	약투여기간	비투여기간	
Erlotinib	1,716,786	1,716,786	-	청구자료
Cisplatin+pemetrexed	1,633,799	4,207,322	650,922	청구자료
Cisplatin+gemcitabin	1,094,133	3,368,131	575,041	청구자료
Docetaxel 2차	1,096,629	3,343,350	721,430	청구자료
Pemetrexed 2차	1,836,823	4,559,316	650,134	청구자료
BSC	1,050,981	1,050,981	-	윤영호 2005

- 1) 분석관점은 비급여를 제외한 직접의료비용만을 포함한 보험자관점에서 분석하였으며, 자료원은 건강보험심사평가원의 2011년 환자표본자료를 이용하였다.
 > 기본분석: 청구자료 특성상 약제투여기간과 비투여기간이 모호하므로 약투여와 관계없이 동일하게 1개월(연평균비용/12) 적용
 > 민감도분석: 항암화학요법을 포함한 명세서와 항암제를 포함하지 않는 명세서로 구분하여 약투여기간(4주기)과 비투여기간 비용을 결정함
- 2) BSC 비용은 청구자료에서 구할 수 없기 때문에 문헌에서 얻은 값 적용
 - NSCLC 환자에 국한하여 수행된 연구가 없었기 때문에 다른 암종을 포괄하여 암환자의 사망전 1년간 호스피스 및 완화의료 이용 환자군의 의료비용 연구 적용(윤영호 2005)
- 3) 모든 비용은 통계청 소비자물가지수의 보건항목 물가지수를 반영하여 2014년 기준으로 보정하였다.



4) 할인율은 기본분석에서 3%를 적용하였다.

PAGE/2

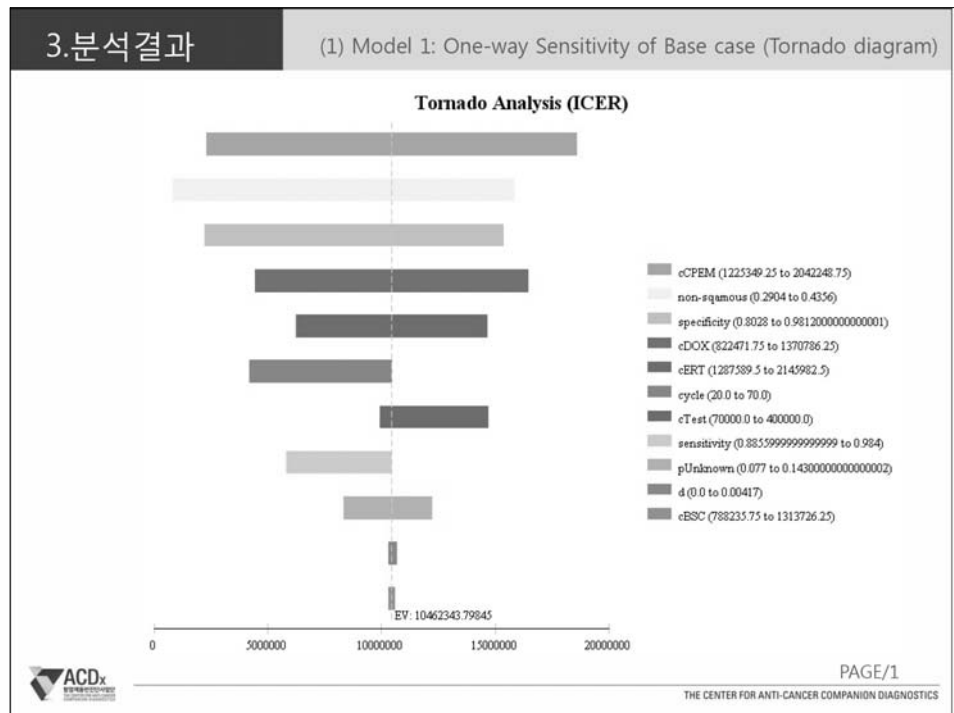
THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

2.연구방법		(8) Utilities	
		Estimate	Source
Health-state utilities			
	Baseline utility(progression-free, SD)	0.653	Nafees
	Disease progression(1st Progression, 2nd Progression-BSC)	0.473	Nafees
Disutilities related to adverse events (grade 3 or 4)			
	Neutropenia	0.090	Nafees
	Febrile Neutropenia	0.090	Nafees
	Fatigue	0.073	Nafees
	Nausea & Vomiting	0.048	Nafees
	Diarrhoea	0.047	Nafees
	Hair loss	0.045	Nafees
	Rash	0.032	Nafees
	Anaemia	0.073	NICE HTA 2014
Disutilities related to treatment			
	Intravenous therapy	0.043	NICE HTA 2014
Utility increment related to treatment (compared to IV)			
1) 이 연구에 포함된 대상으로 항암화학요법을 받았다고 가정하여 SG0 방식으로 투여한 효용 연구에 기반 > 기본분석: Nafees 결과에 경구제나 약제 투여하지 않는 군에 0.02 추가효용 적용 > 민감도분석: Nafees 결과에 주사제 투여하는 4주기에 대해 0.043 (-)효용 적용 부작용은 표에 제시된 항목이 포함되었고, 부작용발생률은 임상효과에서 사용한 문헌으로부터 얻음			



3.분석결과		(1) Model 1: Base Case and Sensitivity Analyses				
구분	Strategy	Cost (원)	Incr Cost (원)	Eff (QALY)	Incr Eff (QALY)	ICER (원/QALY)
기본분석	No test	14,275,929	0	0.42868	0	0
	Test	14,919,961	644,032	0.49023	0.06156	10,462,344
민감도 분석						
① 비용2안 적용 (4 cycle 후 달라짐)	Test	18,137,744	0	0.49023	0	0
	No test	19,922,933	1,785,189	0.42868	(0.06156)	(Dominated)
② 효용: 복용기간 부작용 disutility 적용	No test	14,275,929	0	0.42080	0	0
	Test	14,919,961	644,032	0.48335	0.06255	10,296,800
③ 효용: baseline 값에서 IV disutility 적용	No test	14,275,929	0	0.40838	0	0
	Test	14,919,961	644,032	0.47028	0.06190	10,404,784
④ 검사의 정확도: NICE HTA 결과	No test	14,275,929	0	0.42868	0	0
	Test	15,218,127	942,198	0.49874	0.07006	13,448,152
⑤ 항암화학요법 치료 효과: CGEM→PEM	No test	12,624,435	0	0.45842	0	0
	Test	16,139,262	3,514,826	0.56532	0.10690	32,879,307
⑥ ERT11_PFS IPD 추정법	No test	14,275,929	0	0.42868	0	0
	Test	15,035,600	759,671	0.49422	0.06554	11,590,167



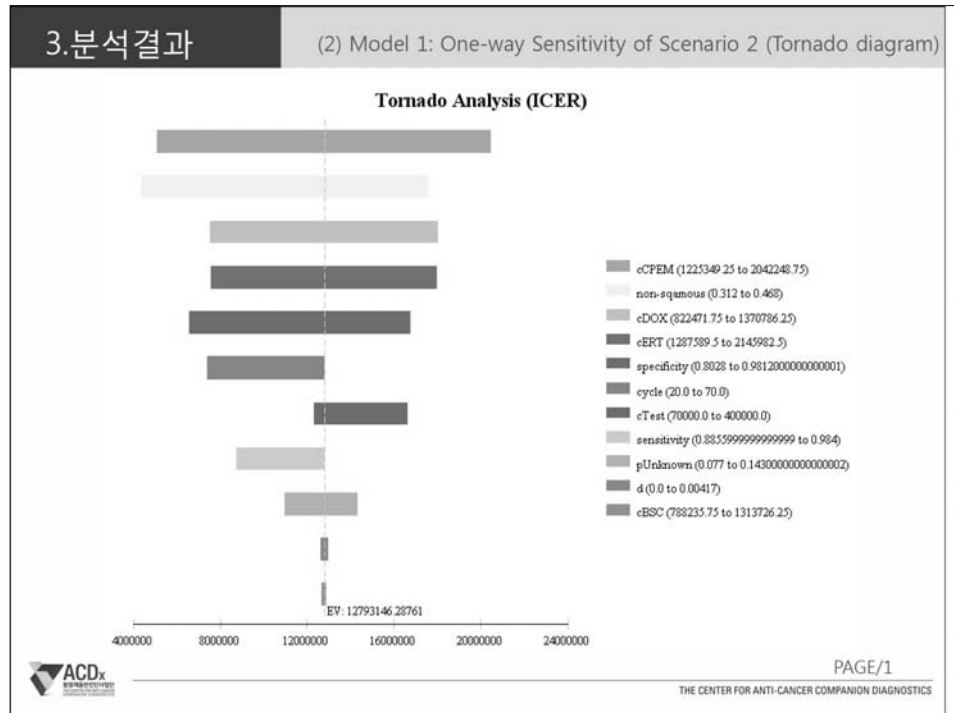


3.분석결과 (2) Model 1: Scenario 2 Analysis and Sensitivity Analyses

구분	Strategy	Cost (원)	Incr Cost (원)	Eff (QALY)	Incr Eff (QALY)	ICER (원/QALY)
기본분석	No test	14,275,929	0	0.42868	0	0
	Test	15,145,871	869,942	0.49668	0.06800	12,793,146
민감도 분석						
① 비용2안 적용 (4cycle 후 달라짐)	Test	18,201,236	0	0.49668	0	0
	No test	19,922,933	1,721,697	0.42868	-0.06800	(Dominated)
② 효용: 복용기간 부작용 disutility 적용	No test	14,275,929	0	0.42080	0	0
	Test	15,145,871	869,942	0.48984	0.06903	12,601,528
③ 효용: baseline 값에서 IV disutility 적용	No test	14,275,929	0	0.40838	0	0
	Test	15,145,871	869,942	0.47666	0.06829	12,739,609
④ 검사의 정확도: NICE HTA 결과	No test	14,275,929	0	0.42868	0	0
	Test	15,356,097	1,080,168	0.50267	0.07400	14,597,507
⑤ 항암화학요법 치료 효과: CGEM→PEM	No test	12,624,435	0	0.45842	0	0
	Test	16,285,473	3,661,038	0.56969	0.11127	32,901,502
⑥ ERT11_PFS IPD 추정법	No test	14,275,929	0	0.42868	0	0
	Test	15,267,930	992,001	0.50089	0.07221	13,737,864

ACDx THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

PAGE/1



3.분석결과 (3) Model 2(Cobas vs LDT): Base Case and Sensitivity Analyses

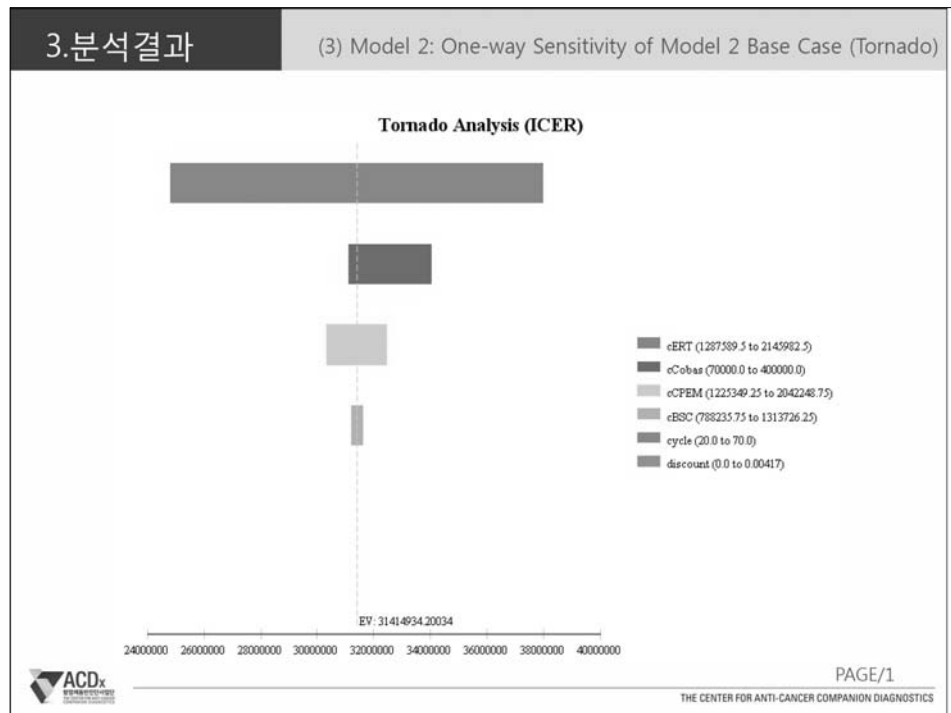
구분	Strategy	Cost (원)	Incr Cost (원)	Eff (QALY)	Incr Eff (QALY)	ICER (원/QALY)
기본분석	LDT T(+)	19,553,581	0	0.61447	0	0
	Cobas T(+)	23,064,407	3,510,826	0.72622	0.11176	31,414,934
비용2안 적용(4 cycle 후 달라짐)	LDT T(+)	18,535,248	0	0.61447	0	0
	Cobas T(+)	21,813,146	3,277,898	0.72622	0.11176	29,330,688
효용		19,553,581	0	0.60919	0	0
복용기간 부작용 disutility 적용	LDT T(+)	23,064,407	3,510,826	0.71998	0.11079	31,687,771
	Cobas T(+)	19,553,581	0	0.59448	0	0
Base에서 IV 효 용 감소 적용	LDT T(+)	23,064,407	3,510,826	0.70271	0.10823	32,437,601
	Cobas T(+)	23,064,407	3,510,826	0.70271	0.10823	32,437,601

ACDx THE CENTER FOR ANTI-CANCER COMPANION DIAGNOSTICS

PAGE/1

3. 분석결과

(3) Model 2: One-way Sensitivity of Model 2 Base Case (Tornado)



4 결론

- 1) 모형 1: test vs. no test의 시나리오 1 분석 (NSCLC 3b, 4기중 EGFR mutation (+) 가능성 높은 환자에 대해 검사 실시)
 - 기본분석 결과 'no test'에 대한 'test'의 incremental cost는 644,032원이었고, incremental effect는 0.06156로 ICER는 10,462,344 원/QALY로 test 그룹이 비용효과적인 것으로 나타났다.
 - 민감도분석 결과 ICER는 10,404,784~32,879,307 원/QALY 결과에 민감하게 영향을 미치는 변수는 없었다. 다만 항암화학요법의 1차약을 cisplatin+gemcitabin, 2차약을 pemetrexed로 적용하는 경우 두 그룹간 비용의 차이와 효과 차이 모두 증가하였으나 비용차이가 더욱 증가하여 ICER가 32,879,307 원/QALY로 증가하였다.
 - 유전자검사비용, 분석기간, Unknown test 비율, Prevalence 비율, 유전자검사 민감도, 특이도, 연 할인율, 치료요법별 치료비용에 대한 민감도분석 결과에서도 결과는 크게 영향을 미치지 않았다.
- 2) 모형 1: test vs. no test의 시나리오 2분석 (NSCLC 3b, 4기 유병환자에 대해 검사 실시)
 - 시나리오 1 분석에 비해 기본분석에서 ICER가 약 2백만원 증가하였으나 전체적으로 크게 차이가 나지 않았다.
- 3) 모형 2: LDT vs Cobas
 - erlotinib 치료를 위한 유전자 검사간 비교는 LDT와 Cobas에 관한 문헌만 이용 가능하였다.
 - LDT에 대한 Cobas의 incremental cost는 3,510,826원이었고, incremental effect는 0.11176로 ICER는 31,414,934 원/QALY로 Cobas 군에서 사망률이 낮아 비용과 효과가 모두 더 큰 것으로 나타났다.

4. 결론

(2) 연구의 한계



- 임상효과에 대한 자료와 비용추정 자료의 한계로 인한 불확실성이 존재
 - 체외동반진단기기의 임상적 성과는 기존 문헌에 의존하였음.
 - 체외동반진단기기에 따라 다른 결과를 가져올 수 있으나 본 연구에서는 모델1에서는 넓은 범위의 진단기기를 포괄하여 수행하여 진단기기별 차이를 고려하지 못하였으며, 모델 2에서는 체외동반진단기기로 허가받은 항암제와의 임상결과를 사용하였으나, 1편의 문헌만 존재하였음.
 - 향후 체외동반진단기기로 허가 또는 급여받기 위해서는 진단과 치료약제의 동반 임상 시험이 수행될 필요가 있으며, 실제 결과에 근거한 자료분석이 시행될 필요가 있음.
 - 비용자료의 경우에도 환자표본자료에 포함된 폐암환자수가 적어 치료약제별로 대표성 있는 비용추정에 어려움이 있음.
 - 비의료비용, 한방 및 자가치료 비용 등은 고려하지 않음



동반진단 검사의 등재절차 및 제한점

권 창 익

한국로슈진단

환자맞춤형치료의 발달로 따라 특정 질환의 감별 또는 확진을 위해 치료방법(또는 의약품)과 연계되어 동반진단검사 부문에 대한 연구에 많은 관심이 모아지고 있다.

효율적인 의료자원의 활용과 환자 관리 효과의 극대화를 위해 반드시 필요한 검사임에도 불구하고 아직까지 우리나라에서 동반진단검사와 관련된 정책적 고려는 초기단계라 할 수 있다.

따라서, 본 장에서는 동반진단검사의 국내 등재절차 현황 및 제한점에 대해 산업분야에서의 경험과 관점을 중심으로 논의해 보고자 한다.



Contents

- Experience of New Companion Diagnostics
- Evolving regulatory environment
- Reimbursement challenges
- Conclusion: Proposal




The Future of Health services






Personalised medicine

A Paradigm shift in healthcare


NHI and PHC






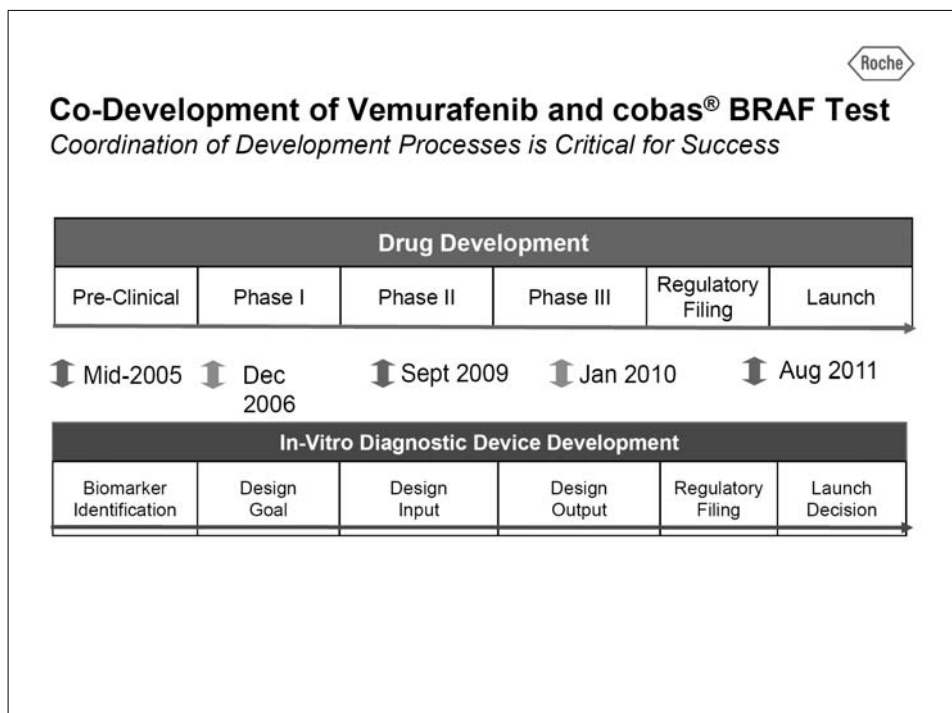
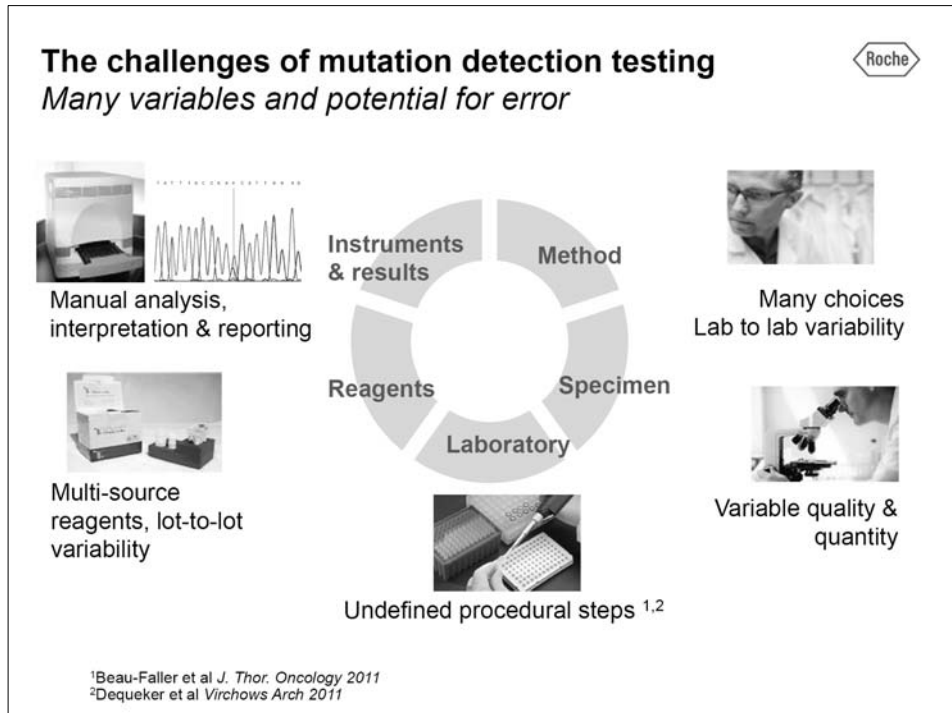
Patient-centered**Fiscally-responsible**


= Better drug use > Improved health outcomes > Lower overall health costs



Experience of New Diagnostics Development









cobas® 4800 BRAF V600 Mutation Test


Used to select patients in vemurafenib phase II and III trials



cobas® BRAF Test




**cobas® BRAF result report:
"Mutation Detected"**




Vemurafenib therapy eligible

cobas® 4800 BRAF V600 Mutation Test. CE-IVD Package Insert. Roche Molecular Systems, Inc., USA. 2011; Zelboraf™ (vemurafenib). US Package Insert. Genentech Inc., August 2011.


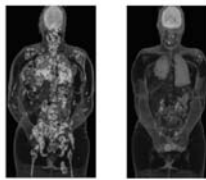
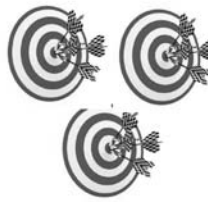



cobas® BRAF considered high risk class III device

Highest degree of FDA review and ongoing oversight



Ongoing quality assessment through required QC release criteria
annual reporting and facilities inspections

Analytically Accurate & robust	Clinically Validated	Reproducible	Manufacturing Quality
			
<ul style="list-style-type: none"> 25 performance verification >600 specimens 	<p>>2300 patients in BRIM2 & BRIM3</p>	<ul style="list-style-type: none"> 1440 samples 3 labs; 2 operators 3 reagent lots 	<ul style="list-style-type: none"> Reagents, SW & HW meet GMP FDA inspection



Regulatory environment



Revised regulatory framework ***Principles and recommendations***

- Stronger supervision of assessment bodies
- Ensure standards for patients safety without compromising rapid access to innovation
- Stricter clinical evidence requirements
- Not yet clear harmonised rules
- Need specific identification and re-classification of CDx
- Proposal for coordinated review of companion diagnostic and its corresponding medicine

Companion diagnostics *Unique class of IVDs*

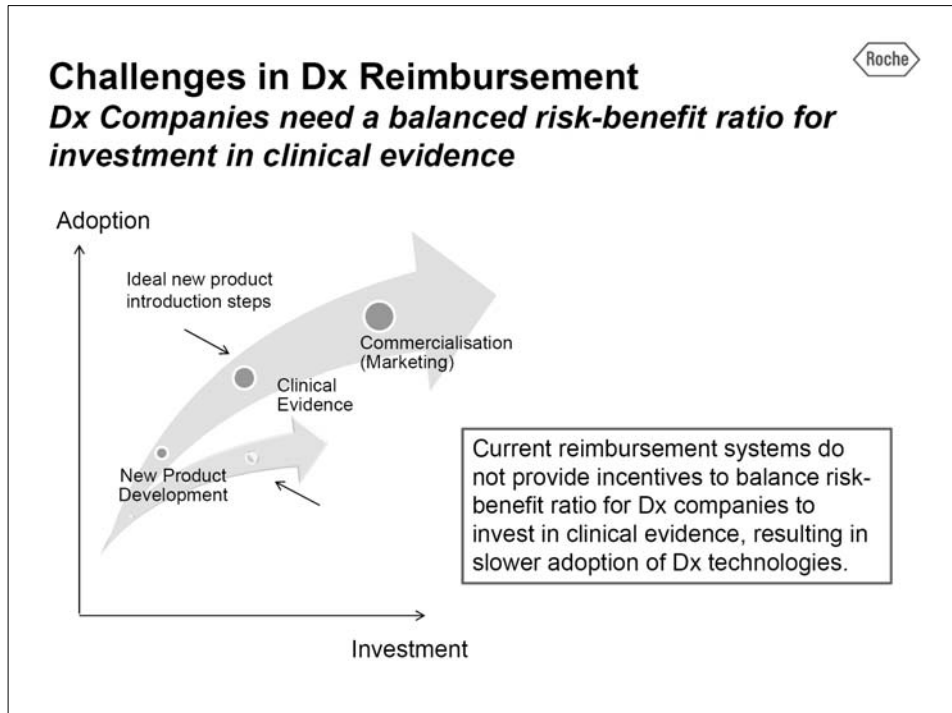


- Standards of clinical evidence
 - Shorter life-cycles, different risk-benefit profiles
- Approval of drug – diagnostic combination
 - Coordinated process without duplication of regulatory requirements
- Unregulated in-house tests
 - In-house tests develop and employ tests without supporting clinical data
 - No standardised review of safety and effectiveness



Challenges in Reimbursement





Rewarding innovation and ensuring access

reimbursement of PHC in Korea

	Pharmaceuticals	Diagnostics
HTA	Established	New -Uncertain impact on uptake and pricing.
Market exclusivity	Extensive patent protection & data exclusivity	Limited protection
Pricing	Value based.	Cost based.
Reimbursement	Drug tariff & mandatory funding of positively appraised drugs.	No difference from IVD

Conclusions



Pricing and reimbursement

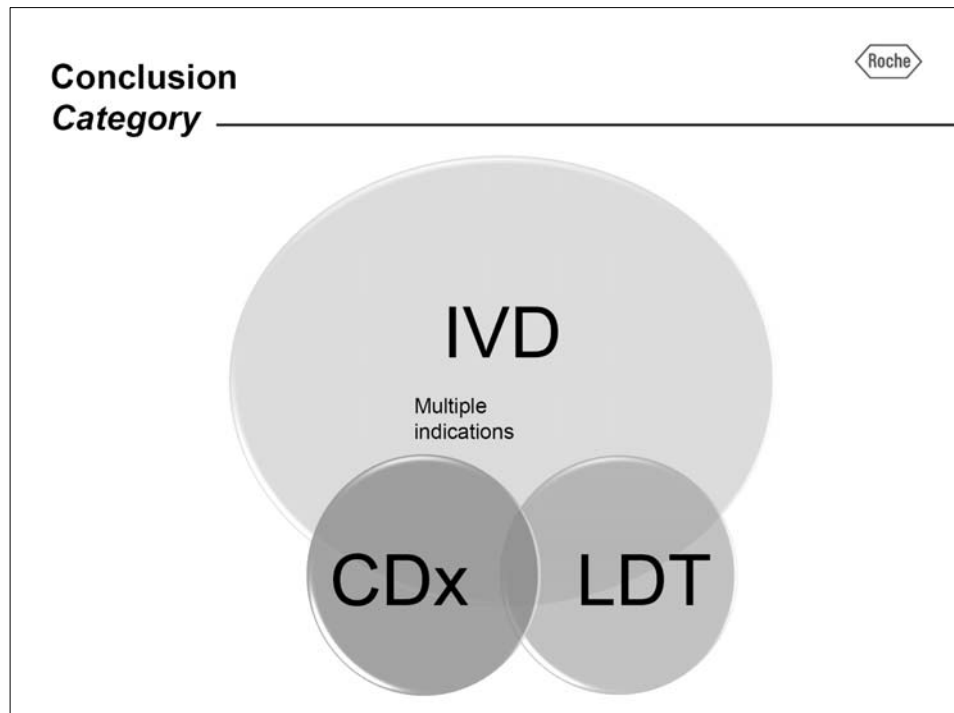
- **PHC will optimize the use of healthcare resources**; the benefits of non-treatment, improved efficacy and avoidance of severe side effects will bring great improvements.
- **Investments in innovation need to be rewarded**, or they won't happen. Incentives could come in the form of an effective approval system and **value-based pricing** -which is already common for pharmaceuticals –also for companion diagnostics.

Conclusions



Pricing and reimbursement

- **PHC needs a comprehensive value evaluation to capture its true benefits. Assessment criteria must be reasonable and coherent.**
- **It is necessary that both the medicine and the diagnostic obtain synchronized reimbursement**, or one will block the other. More alignment/exchange between pharmaceutical and diagnostic reimbursement pathways is crucial to ensure early patient access.



Doing now what patients need next



체외동반진단기기 관련 신의료기술평가

이 선 희

가천대학교 간호대학

현재 “체외동반진단기기를 활용한 유전자 검사”와 그에따라 선택되는 “항암제”는 각각 다른 절차를 통해 안전성 및 유효성 평가를 받고 있다.

“체외동반진단기기를 활용한 유전자 검사”는 진단기기에 대한 식품의약품안전처의 허가 후 관련 유전자 검사가 항암제 선택 및 암환자 의료결과 향상에 유용한 검사에 대해 한국보건의료연구원 신의료기술평가사업본부에서 관련 논문을 통한 체계적문헌고찰을 통해 평가하고 있다.

한편 “체외동반진단기기”를 활용하는 항암제는 식품의약품안전처의 허가후 비급여로 환자에게 사용은 가능하나 급여등제를 위해서는 건강보험심사평가원의 약제등재부에 경제성평가자료를 제출해야 한다.

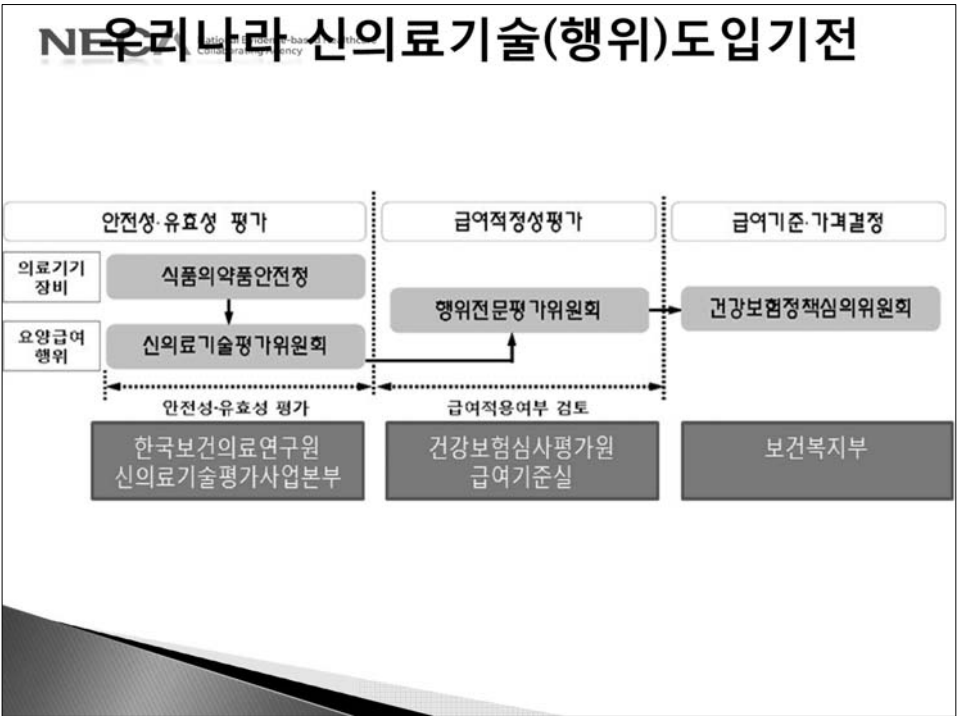
암유전자의 진단 및 그를 활용한 치료방법의 선택은 맞춤형 치료를 추구하는 최근경향에서 매우중요하며 의료기술평가에서도 이의 효율적인 평가체계 구축이 필요하다는 의견이 제기 되고 있다.

현재 이원화된 체제에서 비록 해당 항암제가 식품의약품안전처의 허가를 받더라도 “체외동반진단기기를 활용한 유전자 검사”의 신의료기술평가 결과가 없는 경우 검사인정이 안되어 현실적으로 진료에서 활용되기는 어렵다.

이에 규제 선진화를 위한 정부부처 및 보건의료연구원, 심평원 등 의약품 및 신의료기술평가 관련기관의 긴밀한 협력이 필요하다

ex) 신의료기술평가사례: EGFR 유전자 돌연변이 검사 : 타이로신키나아제억제제(tyrosine kinase inhibitors) 치료에 민감성을 갖고 있는 EGFR 유전자 돌연변이를 검출할 수 있는 검사방법

1. 암 관련 체외동반진단기기의 안전성 및 유효성에 대한 신의료기술평가
2. 암 관련 유전자를 이용한 신의료기술평가 사례.
3. 동반진단검사를 활용한 “항암제”등재시 신의료기술평가의 역할
4. 체외동반진단기기의 효율적 활용을 위한 규제선진화 방안 등에 대해서 알아본다.



결정·조정신청 (약제) 급여대상여부 및 상한금액 검토

1. 안전성, 유효성 확인 : 식품의약품안전청
2. 급여대상여부 : 건강보험심사평가원(약제급여평가위원회)
 - 대체가능성, 질병의 위중도, 치료적 이익 등 임상적 유용성
 - 투약비용, 임상효과의 개선 정도, 경제성평가 결과 등 비용효과성
 - 대상환자수, 예상사용량, 기존 약제나 치료법의 대체 효과 등 보험재정에 미치는 영향
 - 제외국의 등재여부, 등재가격, 급여기준 등
 - 기타 국민건강에 미치는 영향 등
3. 상한금액 검토 : 국민건강보험공단

4

결정·조정신청 (행위, 치료재료) 급여대상여부 및 상한금액 검토

<의료법>

안전성·유효성 등의 확인 : 신의료기술평가제도

<건강보험법>

급여대상여부 및 상한금액 : 의료행위전문평가위원회

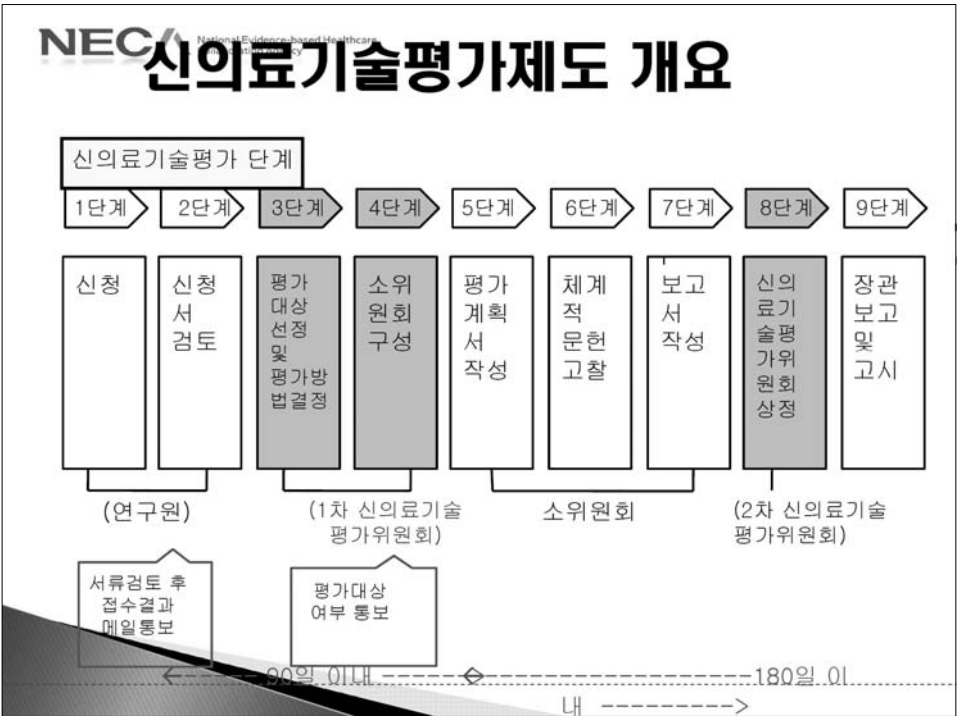
✓ 급여의 적정성 검토

(보험급여원리 및 건강보험재정상태 등을 고려)

✓ 경제성 검토

(대체가능성 및 비용효과성 등을 고려)

5



NECA
National Evidence-based Healthcare
Collaborating Agency

평가절차 개요

1

신의료기술평가의 신청

- 신의료기술평가를 신청하고자 하는 자는 신의료기술평가신청서를 보건복지부장관에게 제출

※ 평가대상

- ① 신의료기술평가를 받지 아니한 새로운 의료기술
- ② 고시된 신의료기술의 사용목적, 사용대상 및 시술방법 등이 변경된 의료기술

8

NECA
National Evidence-based Healthcare
Collaborating Agency

평가절차 개요

2

평가대상 여부 심의 : 신의료기술평가위원회

- 신청한 신기술이 평가할 대상인지 여부를 심의하기 위하여 관련 자료를 수집하여 위원회에 상정(기존기술, 조기기술, 신의료기술평가대상)
- 평가 대상으로 결정되면, 해당기술의 평가방법과 소위원회 구성 여부를 위원회에서 결정(SR, 진료기록부, 보험청구자료 등)
- 신청서를 접수한 날로부터 90일 이내에 평가대상여부를 신청자에게 통보

9

평가절차 개요

3 신의료기술 평가 : 소위원회

- 신의료기술평가위원회의 자문위원회
 - 심의사항을 전문적으로 검토하기 위해 위원회 내에 설치
- 제 1차 회의 : 평가계획서(protocol)작성
- 제 2차 회의 : 문헌 검색 · 질 평가
- 제 3차 회의 : 자료 추출 후 결과종합
- 제 4차 회의 : 종합된 결과를 토대로 제언
- 해당 기술의 안전성 · 유효성에 대한 검토결과 작성 후 신의료기술평가위원회에 보고(180일 이내)

10

평가절차 개요

4 신의료기술의 안전성 · 유효성 평가 최종 심의 : 신의료기술평가위원회

- 분야별 전문평가위원회의 검토결과를 토대로 심의 후 보건복지부장관에게 보고

5 신의료기술평가 결과의 공표 : 보건복지부

- 접수된 신의료기술이 평가대상인 경우 신청서를 접수한 날로부터 1년 이내에 신의료기술의 안전성 · 유효성에 대한 평가결과, 사용목적, 사용대상 및 시술방법 등을 고시하고 신청자에게 통보

11



NECA National Evidence-based Healthcare Collaborating Agency

신청 현황

- ❖ 악성 흑색종 환자에서 BRAF 유전자, 돌연변이는 세포의 성장과 분과, 악성화에 관여하는 BRAF(B-type Raf Kinase) 유전자 돌연변이를 검사하여 BRAF 활성화소 억제제(표적 치료제)의 치료방침을 결정하기 위한 검사로, "BRAF 유전자 내 V600 돌연변이 검출검사[실시간 중합효소연쇄반응]"라는 명칭으로 2012년 8월 10일 신청·접수 되었음
- ❖ 2012년 제11차 신의료기술평가위원회(2012.11.23)에서 악성 흑색종 환자에서 BRAF 유전자, 돌연변이는 안전성 및 유효성에 대한 평가가 필요한 신의료기술이며, 피부과 2인, 병리과 2인, 중앙혈액내과 1인으로 구성된 소위원회를 통해 체계적 문헌고찰 방법으로 평가하도록 심의하였음
- ❖ 이후, 제1차 소위원회에서는 동 검사의 명칭을 "악성 흑색종 환자에서 BRAF 유전자, 돌연변이"로 변경하고, PCR 기반의 검사 방법을 포괄적으로 평가하는 것으로 심의하였음

신청 기술

- ❖ 실시간 중합효소연쇄반응의 원리는 DNA를 증폭시키면서 증폭산물을 동시에 검출할 수 있는 방법으로, PCR 반응 과정에서 두 가지 종류의 형광물질을 사용함(대한진단검사의학회편 2010)
- ❖ 검사소요시간은 총 5시간으로 핵산 추출에 3시간, 증폭 및 검출에 2시간이 소요됨



그림 1. 추출시약 및 BRAF V600 Mutation Test 키트 및 Vemurafenib 치료제
(출처: Roche 제품 페이지)

평가 방법

평가 방법 (PICO)

❖ 대상환자(patients)

- 악성 흑색종

❖ 중재검사(index test)

- BRAF 유전자, 돌연변이 검사
 - 실시간 중합효소연쇄반응
 - 중합효소연쇄반응
 - 대립유전자특이실시간 중합효소연쇄반응

❖ 참조검사(reference test)

- 염기서열검사
 - 직접염기서열검사
 - pyrosequencing

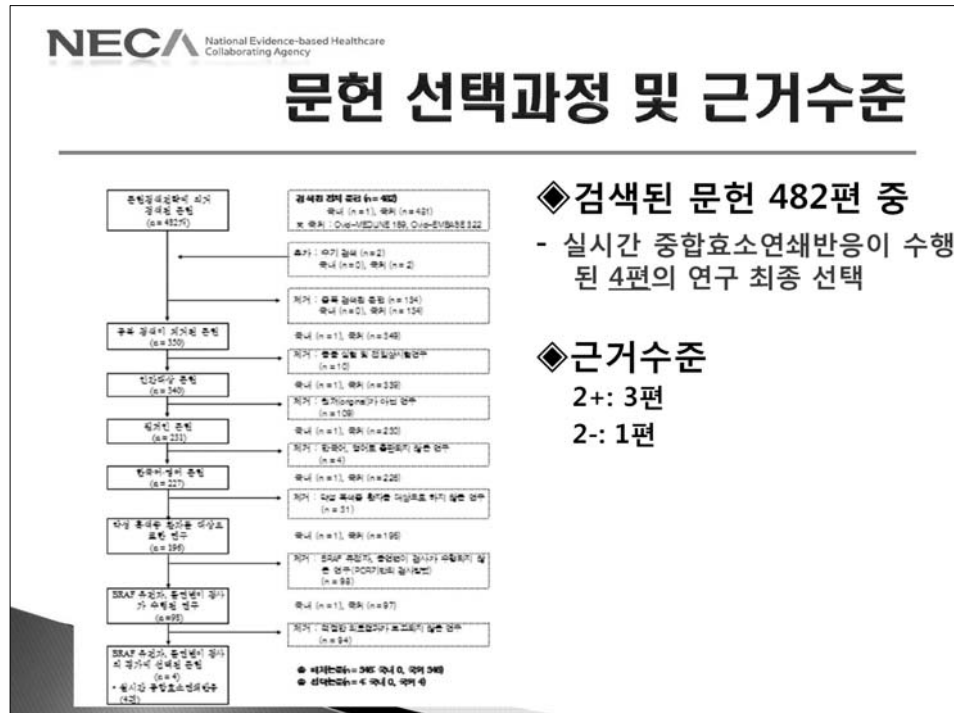
평가 방법 (PICO)

❖ 비교검사(comparators)

- 면역조직화학염색검사(돌연변이 특이항체 검사)

❖ 의료결과(outcomes)

- 진단정확성
- 참조/비교검사와의 일치율



평가결과

평가결과 - 개요

- ▶ 첫째, 악성 흑색종 환자에서 BRAF 유전자, 돌연변이 검사에 대해 임상진료지침을 통해 검토하고
- ▶ 둘째, 악성 흑색종 환자에서 BRAF 유전자, 돌연변이 검사에 대해 체계적 문헌고찰을 통해 안전성과 유효성을 평가함

임상진료지침 검토결과(1)

- ▶ 악성 흑색종 환자에서 BRAF 유전자, 돌연변이 검사에 대해 미국 National Comprehensive Cancer Network(NCCN), 미국 국립암센터(National Cancer Institute), 영국 National Institute for Health and Clinical Excellence(NHS)에서 제시한 임상진료지침의 내용을 검토하여 동 검사의 임상적 유용성에 대한 결과를 다음과 같이 제시함

임상진료지침 검토를 위한 자료목록	
1	미국 National Comprehensive Cancer Network, NCCN Clinical Practice Guideline in Oncology, Version 2.2013
2	미국 National Cancer Institute, Cancer Drug Information(2011.8.17)
3	영국 National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE technology appraisal guidance 2

임상진료지침 검토결과(2)

- ▶ 미국 FDA 승인의 근거가 된 Phase III 무작위 임상시험연구 결과(실시간 중합효소연쇄반응 검사로 BRAF V600 유전자 돌연변이 양성으로 확인된 치료받지 않은 전이성 흑색종 환자 675명 대상) :
 - 무병생존률: vemurafenib 치료군 > dacarbazine 치료군
5.3개월(HR=0.38; 95% CI 0.32-0.46) ↑
 - 전체 생존률: 3.3개월(HR=0.76; 95% CI 0.63~0.93) ↑
 - vemurafenib의 치료 반응률: 0.9%(2010년 12월 시점) < 5.6%(2012년 2월 시점)
- ▶ 따라서, 미국 및 영국 임상진료지침에서는 BRAF 유전자 돌연변이가 검출된 말기암 또는 전이성 및 적출불가능한 악성 흑색종 환자를 대상으로 한 BRAF 활성화소 억제제 (vemurafenib)의 임상평가를 통해 동 치료제의 사용을 권고함과 더불어, 치료전 BRAF 유전자 돌연변이 양성 여부를 검사하도록 권고하고 있음

체계적 문헌고찰 검토결과-안전성(1)

- ▶ 악성 흑색종 환자에서 BRAF 유전자, 돌연변이의 안전성은 환자의 종양조직을 채취하여 체외에서 이루어지므로 환자에게 직접적인 위해를 가하지 않으며, 동 검사만을 위하여 검체가 채취되는 경우는 기존의 생검과 유사한 정도의 안전성이 있을 것으로 판단되어 안전한 검사로 평가함

체계적 문헌고찰 검토결과-유효성(2)

- ▶ 악성 흑색종 환자에서 BRAF 유전자, 돌연변이의 유효성은 참조검사인 염기서열검사와 비교한 4편의 연구로 평가함
- ▶ 소위원회에서는 PCR 기반의 검사를 포괄적으로 평가하는 것으로 심의하였으나, 실시간 중합효소연쇄반응 검사에 대한 문헌만 확인되어 이에 대해 평가함

연번	연구 유형	저자 (출판 연도)	연구 국가	연구 대상/검체 (명/개)	중재 검사	참조 검사	근거 수준
1	진단법 평가연구	Lopez-Rios (2013) ²⁷⁾	미국	악성 흑색종 종양조직 검체 (108개) [*]	실시간 중합효소연쇄반응 (Cobas 4800 test kit, Roche)	직접염기서열검사, pyrosequencing	2+
2	진단법 평가연구	Anderson (2012) ²⁸⁾	미국, 호주	전이성 흑색종 확진 환자 (477명)	실시간 중합효소연쇄반응 (Cobas 4800 test kit, Roche)	직접염기서열검사	2+
3	진단법 평가연구	Halait (2012) ²⁹⁾	미국	악성 흑색종 종양조직 검체 (438개) [*]	실시간 중합효소연쇄반응 (Cobas 4800 test kit, Roche)	직접염기서열검사, pyrosequencing	2+
4	진단법 평가연구	Schoenewolf (2012) ³⁰⁾	스위스	적출 불가능한 악성 흑색종 4기 확진 환자(62명)	실시간 중합효소연쇄반응	직접염기서열검사	2+

^{*}external commercial vendors

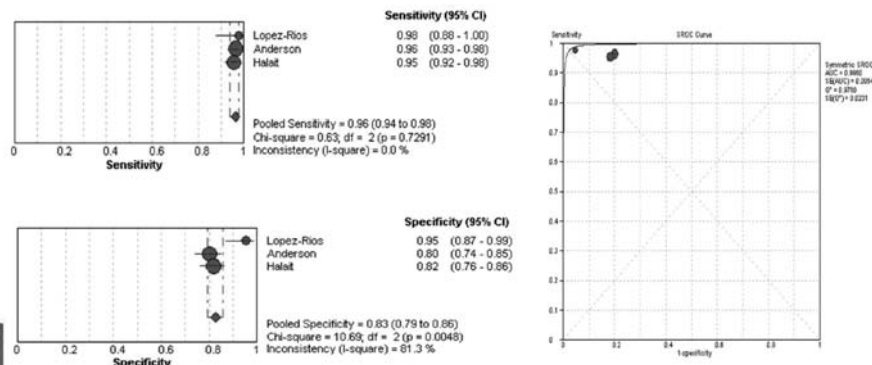
체계적 문헌고찰 검토결과-유효성(3)

- ▶ 실시간 중합효소연쇄반응의 진단정확성

	진단정확성	
참조검사	직접염기서열검사	직접염기서열검사 및 pyrosequencing
민감도	0.85~0.98	1.00
특이도	0.80~0.95	0.93~0.97
양성예측도	0.81~0.93	0.93~0.96
음성예측도	0.95~0.98	1.00
검사정확도	0.88~0.96	0.96~0.98

체계적 문헌고찰 검토결과-유효성(4)

- ▶ 참조검사를 직접염기서열검사로 한 실시간 중합효소연쇄반응의 진단정확성을 산출할 수 있는 3편의 문헌을 대상으로 메타분석한 결과



체계적 문헌고찰 검토결과-유효성(5)

- ▶ 실시간 중합효소연쇄반응과 참조검사의 일치율

참조검사	일치율	
	직접염기서열검사	직접염기서열검사 및 pyrosequencing
Real-time PCR	88.4~96.3%	98.1%

소위원회 검토결과

NECA National Evidence-based Healthcare
Collaborating Agency

소위원회 검토결과

- ▶ 이러한 임상진료지침 및 문헌적 근거를 토대로 소위원회에서는 악성 흑색종 환자에서 BRAF 유전자, 돌연변이[실시간 중합효소연쇄반응]은 악성 흑색종 환자를 대상으로 시행시 BRAF 활성화소 억제제의 치료방침을 결정하는데 있어 안전성 및 유효성이 있는 기술로 평가함 (권고등급 C).

적응증에 대한 소위원회 재논의 추가의견

(1안)

- ▶ 소위원회 3인(병리과, 종양혈액내과)의 의견으로서 암환자의 병기는 경과도중 변화 할 수 있어 1 또는 2기의 초기 악성 흑색종 환자에서 시행시 추후 신속한 치료방향을 결정하는데 도움을 줄 수 있으므로 적응증을 제한할 필요가 없다는 의견이었으며,

(2안)

- ▶ 소위원회 2인(피부과)의 의견으로서 동 검사는 BRAF 활성화소 억제제(Vemurafenib)의 사용여부 결정을 위한 목적으로 시행되는 것이며, 1 또는 2기의 초기 악성 흑색종 환자의 경우 수술 및 면역 치료가 가능하며 BRAF 검사를 통해 미리 약제를 투약할 수 있는 상황이 아니므로 치료제의 적응증인 말기암 또는 전이성 및 적출불가능한 악성 흑색종 환자로 적응증을 제한해야 한다는 의견이었음
- ▶ 따라서 이에 대해 신의료기술평가위원회의 논의가 필요하다고 판단됨

감사합니다

항암치료 비용과 건강보험 재정

박 미 혜

건강보험심사평가원

최근 들어 의약품 개발의 목표가 되고 있는 말기 항암제 혹은 표적치료제들은 그 대상 환자의 규모가 작아 제약사는 R&D 비용에 대한 회수 및 일정 규모의 판매 규모를 유지하기 위해 매우 높은 약가를 추구하고 있음.

신약의 급여적정성 평가 시에는 비교약제와의 상대적 임상적 유용성과 비용효과성에 대한 적절성이 평가되어야 하는데 이러한 범주에 포함되는 약제들이 일정 범위의 비용효과성을 만족시키기가 용이하지 않음.

표적항암제는 일반적인 항암화학요법제에 비해 적절한 대상 환자를 선별하고 불필요한 투여군을 배제함으로써 기존 항암화학요법제에 비해 효과를 증가시키거나 부작용을 감소시키는 등의 긍정적인 측면이 충분히 존재함. 그러나 이러한 긍정적인 부분에 대해 지출 가능한 사회적으로 용인되는 비용의 크기에 대해서는 여러 주장이 존재함.

대상이 되는 환자들에게는 상당한 benefit을 가져다주지만 이러한 benefit을 받는 환자군은 매우 소수이고 이를 선별하기 위한 진단 비용은 전체 환자에 지출되어야 하는 등의 다양한 문제제기가 있음.

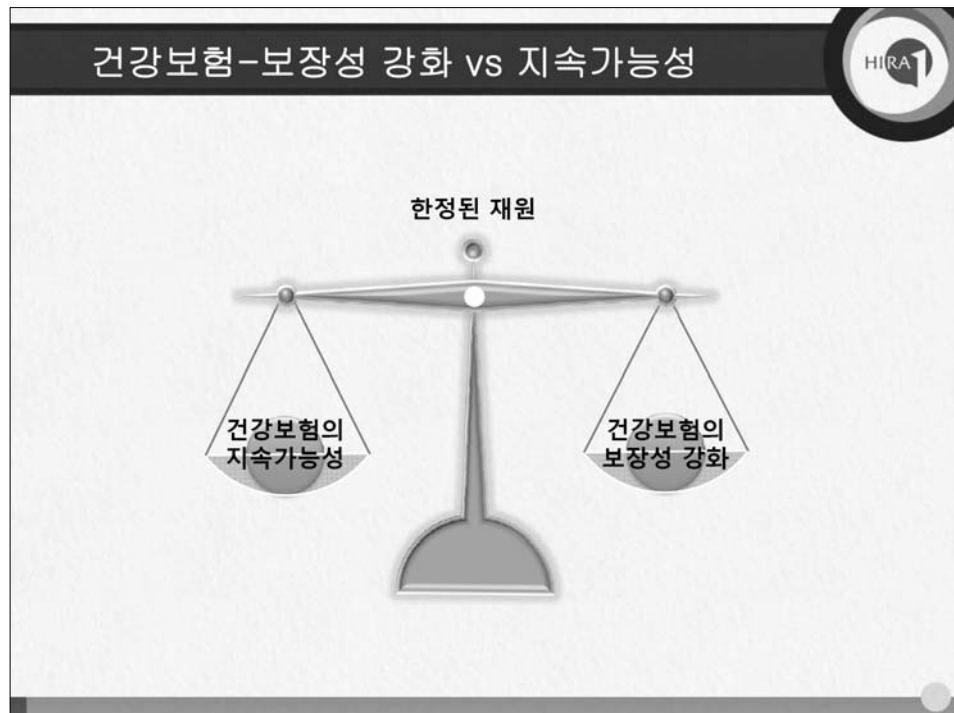
특히 소규모의 환자를 목표로 하는 희귀질환치료제 및 말기암 치료제 혹은 특정 유전자 발현에 사용되는 약제들 및 대상 질환의 수가 많아 개별 약제들의 재정 규모는 그리 크지 않더라도 전체적인 규모는 상당히 커질 수 있음.

이러한 질환 및 치료제가 향후의 의약품 개발 방향이 되고 있어 높은 가격이 계속 인정되고 유지될 경우 보험 재정에는 지속적으로 부담이 될 수 있음.

또한 연간 개인에 지출되는 소요비용도 큰 경우가 많아 보험 재정의 형평성 있는 지출에 대한 문제제기도 존재하는 상황임.

그럼에도 건강보험의 공보험으로서의 사회적 기능과 재난적 의료비에 대한 사회 연대 의식 및 지출의 우선순위에 대한 논의 등에서 질병의 위중도 및 소수의 환자에 사용되는 약제에 대한 추가적인 혜택에 지지하는 의견들이 많음.

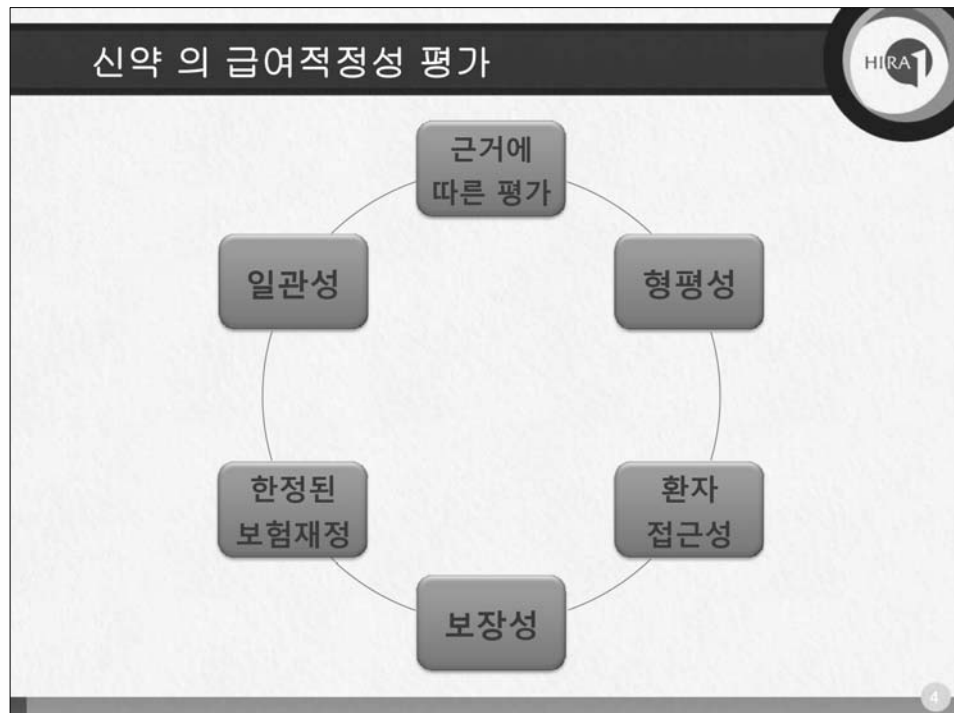
표적치료제와 같은 소수의 환자를 목표로 개발되는 약제들의 비용 및 보험재정과 관련된 다양한 쟁점들을 살펴보고 나아갈 방향성에 대해 모색해보고자 함.



신약의 급여적정성 평가

- 임상적유용성
 - 대체가능성, 질병의 위중도, 치료적 이익
- 비용효과성
 - 투약비용, 효과 개선 정도 대비 소요 비용의 크기
- 대상 환자수, 예상 사용량, 기존 약제나 치료법의 대체 효과 등 보험 재정에 미치는 영향
- 제 외국의 등재 여부 등

- 3 -



의약품 경제성평가

- 의약품 경제성 평가란
 - 비교 대안에 비해 개선된 임상적 유용성 대비 추가적으로 소요되는 비용을 비교하여 비(ratio)로 제시
 - 의약품에서 얻는 이득(benefit)의 크기와 소요되는 비용의 크기를 비교하여 이를 사회가 수용할 수 있는 정도인지 판단하고자 하는 것
- 목적
 - 기존 치료제에 비해 임상적, 경제적 가치가 우수한 의약품을 선별하여 급여함으로써 한정된 보험 재정의 효율적 관리
 - 선택 대안들 중 효율적인 대안을 선택함으로써 한정된 자원 하에서 건강 효용은 극대화하고 기회비용을 최소화
 - 신약이 사회적으로 지불할 가치가 있는지 즉 신약 도입에 따른 비용 증가를 사회가 수용할 수 있는지에 대한 판단 근거

- 5 -

항암제의 특성

HIRA1

- 고가의 치료 비용
- 취약한 임상근거
 - 항암제의 특성 상 2상 임상시험의 결과로 신속심사를 거쳐 허가되는 경우가 많아 상대적으로 견고한 임상자료 미확보
- 크지 않은 건강 편익
 - 다수의 항암제들이 임상시험에서 PFS를 1차 결과지표로 하여 허가 받음
 - PFS의 연장이 반드시 OS의 연장으로 귀결되는 것은 아니며 최종 결과 지표인 생존 연장에서 큰 이득을 보이지 못함
- 경제성평가의 어려움 및 높은 비용효과비
 - Cross-over로 인해 최종 결과의 불확실성 및 이로 인한 경제성평가에서의 불확실성
 - 짧은 관찰 기간에 따른 외삽으로 인한 불확실성
 - 건강 이득의 크기에 비해 고가이므로 비용효과비가 수용 가능하지 않은 경우 많음

- 6 -



Personalized Medicine의 경제성평가 시의 쟁점

HIRA 1

- 유전자 변이가 확인된 소수의 환자 뿐 아니라 사회적 관점에서 전체 환자군을 대상으로 경제성평가
- “검사 없이 표준 치료(treat all)”하는 대안과 “검사 후 치료(test and treat)”하는 대안을 비교
- 검사의 민감도, 특이도에 따른 임상 효과 반영 필요
 - 검사 성능에 따른 직접적인 건강 결과와의 관련성 부족
- 모형에 필요한 근거 부족
 - 모든 근거가 RCT로부터 확보되기 힘들
 - 수준이 낮은 근거들의 수용 가능성

- 8 -

우선순위의 문제

HIRA 1

- 유전자 발현 여부에 따라 효과를 보이는 약제의 경우 선별된 소수의 환자군에는 효과적이나 환자 선별 과정에 사회적 비용 투입
- 대부분의 전체 환자군에는 기존의 치료비용이 투입되고 소수의 환자에서는 고가의 비용 증분 발생
 - 한정된 자원 내에서 소수의 환자에게 과도한 재정을 투입하는 문제
 - 기존 치료제에 비해 크지 않은 생존 연장을 위해 과도한 비용을 투입하는 문제
- 질병의 중증도에 따라 의사결정이 달라져야 하는가에 대한 문제
- 소수를 대상으로 위중한 질병에 사용되는 약제의 경우 건강최대화를 위해 보건의료자원을 배분하는 원칙과 상충됨

- 9 -

우선순위의 문제-소수(희귀의약품)

HIRA1

- 급여 찬성 의견
 - 소규모 환자에서 견고한 비용효과성 정보를 확보하기 어려우므로 희귀의약품에 대한 사회적 가치 결정이 제약될 수 밖에 없음
 - 유병률이 낮기 때문에 전체적으로는 재정에 미치는 영향이 작을 수 있음
 - 취약 그룹이 지원받는 데 대한 사회적 연대 원칙 유지 가능
- 급여 반대 의견
 - 개별 의약품 각각에 대한 지출은 작을 수 있으나 합쳐지면 보험 재정에서 많은 부분을 차지할 수 있음
 - 건강 최대화의 원칙에 따라 소수에게만 이익이 돌아가는 것을 지지할 필요성 부족

- 10 -

건강보험 재정

HIRA1

- 건강보험 재정-보험급여비
 - 2010년 대비 18% 증가

단위:억 원

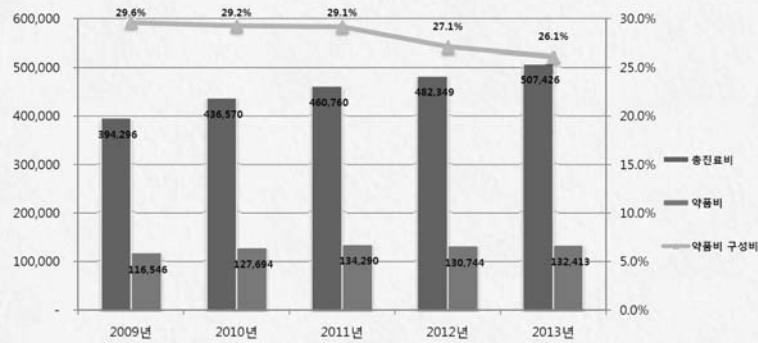
2008	2009	2010	2011	2012	2013
263,798	299,697	337,965	360,560	373,341	398,611
	113.6%	112.8%	106.7%	103.5%	106.8%

- 11 -

건강보험 재정-약품비

HIRA1

- 건강보험 진료비 대비 약품비
 - 약품비는 '13년 13조 2,400억원 규모
※ 연평균 증가율 ('00~'11): 약품비 14.3% > 진료비 13.37%
 - 약품비 비중은 '12년 4월 약가 재평가 이후 27.1%로 감소



- 12 -

항암제와 건강보험-암발생률

HIRA1



보건복지부 암등록통계

- 13 -

항암제와 건강보험-암 관련 급여비					
HIRA1					
■ '13년 신생물 급여비 비율					
	실인원(명)		진료비(천원)		급여비(천원)
21대 주요질병 계	46,103,325		48,708,494,214		36,411,667,107
신생물(C00-D48)	2,927,900	6.35%	4,922,956,073	10.11%	4,440,998,622 12.20%
■ 신생물(C00-D48)					
	2010	2011	2012	2013	
실인원	2,424,920	2,596,121	2,826,170	2,927,900	121%
진료비	4,240,863,590	4,600,694,871	4,888,745,444	4,922,956,073	116%
급여비	3,845,786,174	4,157,770,089	4,411,724,976	4,440,998,622	115%
- 14 -					



제 378 회 학·연·산 연구성과 교류회

인쇄일: 2014년 11월 21일

발행일: 2014년 11월 25일

발행처: 서울대학교 생명공학공동연구원

항암제동반진단사업단

서울특별시 관악구 관악로 1

Tel: 02-880-9126, Fax: 02-883-9126

인쇄처: 청 운

서울시 중구 남학동 22-11번지

Tel: 02-2269-3055/3056, Fax: 02-2269-3060

E-mail: book9988@hanmail.net
