**소아청소년 급성 림프모구 백혈병의 항암제 대사 유전체 연구**

**Pharmacogenetic analysis in pediatric/adolescent acute**

**lymphoblastic leukemia**

**Version No: 1.3**

**책임연구자 소속: 서울대학교병원 소아청소년과**

**책임연구자 이름: 강 형 진**

**연구 개요**

|  |  |
| --- | --- |
| 연구제목 | (국문) 소아청소년 급성 림프모구 백혈병의 항암제 대사 유전체 연구 |
| (영문) Pharmacogenetic analysis in pediatric/adolescent acute lymphoblastic leukemia |
| 책임연구자 | 소아청소년과 강형진 교수 |
| 연구비 지원기관 | 국립암센터암정복추진연구개발사업 |

|  |  |
| --- | --- |
| 연구 목적 | - 급성 림프모구 백혈병에서 사용되는 항암제에 대한 국내 소아청소년 환자의 대사 유전체를 분석하여 항암제의 대사체 농도 및 독성과 관련 있는 약물유전체 정보를 확보하고자 함.  - 궁극적으로 약물 부작용을 고려한 개인별 항암제 적정 용량을 투여할 수 있는 전향적 프로토콜을 작성하여, prospective validation을 진행하고자 하며, 본 연구를 통하여 이를 위한 기반 자료를 확보하고자 함. |
| 연구 설계 | 전향적 코호트 연구 / 인체유래물 연구 |
| 연구 기간 | IRB승인일 ~ 2019.12.31 |
| 연구 대상 | 본 기관에서 연구기간 중 급성 림프모구 백혈병으로 치료 받고 있는 21세 이하의 소아청소년 환자 |
| 연구 대상자 수 | 본 연구는 탐색적 연구로서 연구기간 중 가능한 많은 연구대상자를 모집할 예정임. 1년에 본 기관에서 진단, 치료중인 소아청소년 급성 림프모구 백혈병 환자를 고려할 때, 전향적으로 300명 (1년에 약 60명), 후향적으로 약 300명 정도로 총 600명으로 예상됨. |
| 취약한 연구대상자 | 소아청소년 |
| 연구 방법 | 1. 전향적, 후향적으로 연구 대상자 등록 및 분석  2. 항암제의 대사체 농도 분석  3. 대상 항암제 투여 관련 임상 자료 수집 : 독성 및 치료 결과  4. Next generation sequencing을 이용한 유전체 대량분석-Target gene sequencing  5. 항암제의 대사체 혈중 농도 분석 자료 및 환자의 임상 자료, 약물유전체 기반 분석 정보를 종합.  6. 통계적 분석을 통하여 대사체 농도 및 독성과 관련 있는 약물유전체 정보를 확인. |
| 유효성 평가 | 해당사항없음 |
| 안전성 평가 | 해당사항없음 |
| 기대효과 및  예상결과 | - 독성이 의심되는 농도인 경우에는 약제 용량을 조절하고, 정상 level인 경우에는 다른 약제의 용량을 증량하는 등 치료를 최적화할 수 있음.  - 국내 최초로 소아청소년 급성 림프모구 백혈병 환자에서 mercaptopurine 대사체의 혈중 농도를 분석하고 유전체 대량분석에 기반한 pharmacogenetic data를 확보.  - 본 연구를 통하여 확보된 자료를 향후 국내 소아청소년 급성 림프모구 백혈병의 개인별 맞춤 치료를 위한 기반자료로 활용  - 서구와는 다른 동양인의 pharmacogenetic data를 보고하고 인종간에 항암제 적정 용량의 차이가 있는지에 대한 탐색적 자료 제시.  - 새로운 유전자 polymorphism의 발견 가능.  - 동일한 대사과정을 거치는 약물(mercaptopurine, azathiopurine)을 사용하는 염증성 장질환, 류마티스 질환 등에서 활용 가능. |

**연구계획서**

1. **연구 제목**

소아청소년 급성 림프모구 백혈병의 항암제 대사 유전체 연구

1. **연구의 실시기관 명칭 및 주소**

서울대학교 병원

1. **연구책임자 및 공동연구자 성명 및 직명**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **1) 연구책임자** | 소아청소년과 | 강 형 진 |
| **2) 공동연구자** | 의료정보학교실 | 김 주 한 |
|  | 진단검사의학과 | 송 상 훈 |
|  | 소아청소년과 | 신 희 영 |
|  | 소아청소년과 | 박 경 덕 |
| **3) 연구담당자** | 소아청소년과 | 홍 채 리 |
| **4) 임상시험용 의약품 관리약사 / 임상시험용 의료기기 관리자** | | 해당사항없음 |

1. **연구 의뢰기관  
   1) 연구 의뢰기관 명칭 및 주소** 해당없음  
   **2) 모니터요원 성명 및 직명** 해당없음
2. **연구비 지원기관 명칭 및 주소**

국립암센터암정복추진연구개발사업

1. **예상연구기간**

IRB승인일 ~ 2019.12.31

1. **연구 대상 질환**

급성 림프모구 백혈병

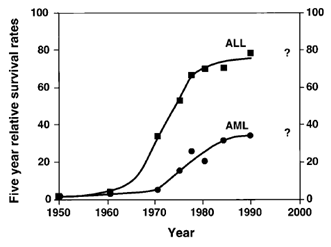
1. **연구의 배경 및 목적**

**1) 연구 배경**

**① 소아 급성 림프모구 백혈병의 선진국의 치료법 개발 현황 및 치료성적**

- 급성 림프모구 백혈병은 가장 성공적으로 치료성적이 향상된 질환임.

- 1950년대에는 생존율이 0%였으나 최근 체계적인 다기관 임상 연구를 통해 소아 급성림프모구 백혈병의 장기 생존율은 표준위험군의 경우 90%, 고위험군의 경우 70-80%로 좋은 치료 성적을 보임.



**② 국내 소아 급성 림프모구 백혈병의 발생 현황**

**○ 국내에서 매년 250여명이 신환이 발생하고 치료기간이 가장 긴 소아암의 대표적 질환**

- 소아 백혈병은 소아암중 가장 많은 빈도로 발생하는 암으로 국내에서 연간 약 1200명의 소아암 환자가 발생하고 있어, 이중 20%인 250여명의 급성 림프모구 백혈병의 신환이 발생하는 것으로 추정.

- 급성 림프모구 백혈병은 첫 진단 후 관해치료로 약 99%의 환자에서 완전 관해를 얻을 수 있으나, 치료기간이 2-3년이 걸리며, 이중 15-30%의 환자가 치료 도중 혹은 치료 후에 재발하게 됨.

- 긴 치료 기간과 재발로 인하여 국내에서는 연간 약 700명의 환자가 계속적인 치료를 받게 됨.

**③ 소아 급성 림프모구 백혈병의 치료에서 현재 남아 있는 문제**

- 아직 고위험 군에서 만족할만한 치료 성적을 얻지 못하고 있음.

- 재발로 인한 치료 실패의 경우, 장기 생존율이 20%에 불과함.

- 장기간 여러 약제를 사용하면서 다양한 치료 관련 독성이 있음.

- 외국에서 개발된 치료를 국내 환자에게 그대로 시행할 경우는 치료 부작용이 높음. (Simone JV et al. 2003, Pui CH et al. 2006)

**④ 소아 급성 림프모구 백혈병에서 약물 유전체 연구의 발전**

- 기존의 연구에 따르면 동일한 용량의 항암제를 투여하여도 다른 독성과 치료 반응을 보이는 이유 중 하나는 환자 개인별로 항암제의 대사에 관련된 유전자들의 polymorphism으로 인한 것으로 알려져 있음 (Evans et al. 1998)

- 이와 같은 배경으로 genetic polymorphism에 기인한 환자별 variability를 반영하여 개인별 맞춤형 치료를 개발하려는 노력이 지속되어 왔으며, 선진국에서는 특히 소아 급성 림프모구 백혈병을 중심으로 환자의 약물 대사 유전체를 적용하여 부작용이 적고 효과적인 치료 지침이 개발되어 왔음 (Rocha et al. 2005, Pui et al. 2004).

**⑤ 급성 림프모구 백혈병 치료에서 적정 항암제 용량 유지의 필요성**

- Purine analogue인 6-mercaptopurine (6-MP) 은 백혈병 치료 시에 주로 사용되는 약제이며, pro-drug인 azathioprine은 면역억제제로 inflammatory bowel disease와 자가 면역 질환 등에 사용되고 있음.

- Mercaptopurine은 소아 급성 림프모구 백혈병의 항암 치료 시 유지치료 단계에서 1-2년 정도 매일 지속 복용하는 약제로, 긴 투여 기간 때문에 대사 관련 유전체에 따른 독성의 발현 빈도가 높고 독성 발생 시 치료 중단이 잦은 약제임.

- 백혈병 유지 요법 중 6-MP의 독성이 발생할 경우 주로 myelosuppression (leukopenia, thrombocytopenia) 이 나타나게 되며, 이로 인해 동시에 복용하는 methotrexate등의 용량도 감량해야 하는 경우가 많음.

- 6-MP의 독성이 발생하는 경우, 유지요법 중 장기간 약물의 titration을 위한 시간이 필요하게 되며 적절한 약물 농도가 장기간 유지되지 못하게 되어 치료 성적에도 영향을 줄 수 있음.

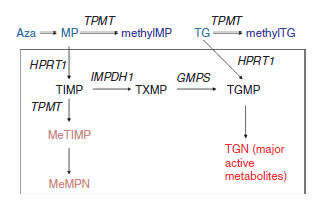
- 이외에 methotrexate의 경우에도

**⑥ 급성 림프모구 백혈병 치료에서 기존의 약물유전체 연구**

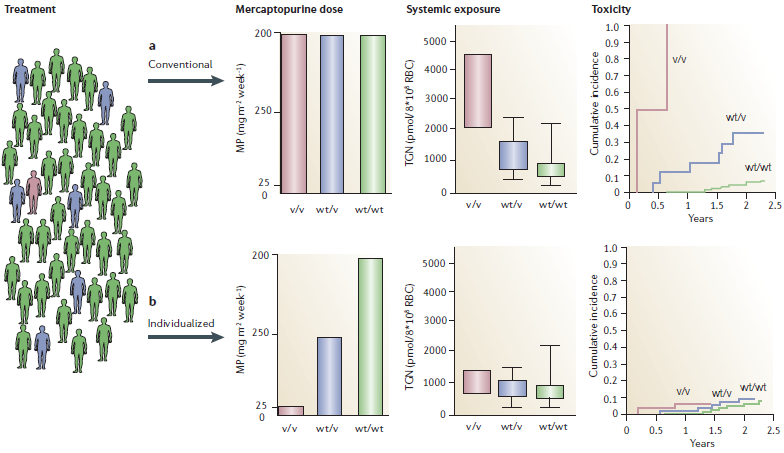
**○ *TPMT* gene의 pharmacogenetics**

- Mercaptopurine은 세포내에서 단계적으로 변환되고 이러한 thioguanine nucleotides (TGN)이 DNA-processing enzyme의 작용을 방해하여 항백혈병 효과를 일으키게 됨.

- 이 과정에서 TPMT (thiopurine methyltransferase) 라는 enzyme이 경쟁적으로 작용하여 주요 산물을 methylation시킴 (Somerville et al. 2003, Relling MV et al. 2011).



- *TPMT* gene의 genetic polymorphism에 대한 기존의 연구에 따르면 *TPMT*의 nonfunctional variant allele을 가진 경우 TPMT activity가 낮고, 따라서 TGN이 과도하게 축적되어 mercaptopurine 치료 시 높은 hematopoietic toxicity를 보이게 됨 (Relling et al. 1999, Cheok et al 2006).



- 현재까지 여러 연구를 통해 확인된 TPMT enzyme activity에 영향을 주는 대표적인 variant는 다음과 같음 (Relling MV et al, 2011).

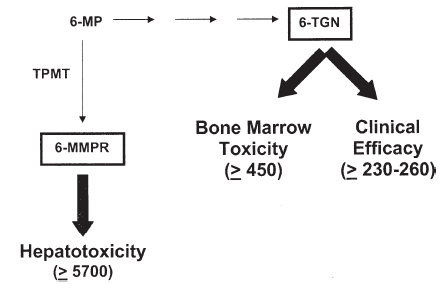
|  |  |
| --- | --- |
| **Allele** | **Constituted by genotypes at:** |
| \*1 | wild-type |
| \*2 | C>G at rs1800462 |
| \*3A | C>T at rs1800460 and T>C at rs1142345 |
| \*3B | C>T at rs1800460 |
| \*3C | T>C at rs1142345 |
| \*4 | C >T at rs1800584 |

- 위의 variant의 조합에 따른 diplotype에 따라 환자의 TPMT activity가 결정됨.

- 이와 같은 연구결과를 바탕으로 *TPMT* variant allele를 가진 환자에서 mercaptopurine의 용량을 감량하여 투여하여 독성을 감소시키는 개별화된 개인별 맞춤 용량 지침이 개발되었음.

**○ 혈중 대사체 농도와 toxicity**

- 소아 급성 림프모구 백혈병과 염증성 장질환에서 시행된 연구에 따르면 6-MP의 주요활동대사물인 6-TGN의 혈중 농도에 따라 임상적 효과와 독성이 연관되어 있으며, 대사물질인 6-TGN과 6-MMPR (6-methylmercaptopurine ribonucleotides) 의 농도는 TPMT enzyme의 activity와 관련이 있음 (Osterman MT et al. 2006).



* 따라서 같은 약물이라도 혈중 대사체의 농도에 따라 독성 및 효과에 차이를 보이므로 약물유전체의 개인차이를 확인하는데, 이와 같은 혈중 대사체 농도의 개인차를 고려해야 할 필요가 있음.

**⑦ 약물 유전체의 인종간 차이**

- 약물유전체의 연구에서 고려해야 할 또 다른 사항은 variant allele frequency에 인종간 차이가 있다는 점임.

**< *TPMT*의 주요 variant genotype의 인종간 빈도 비교 >**

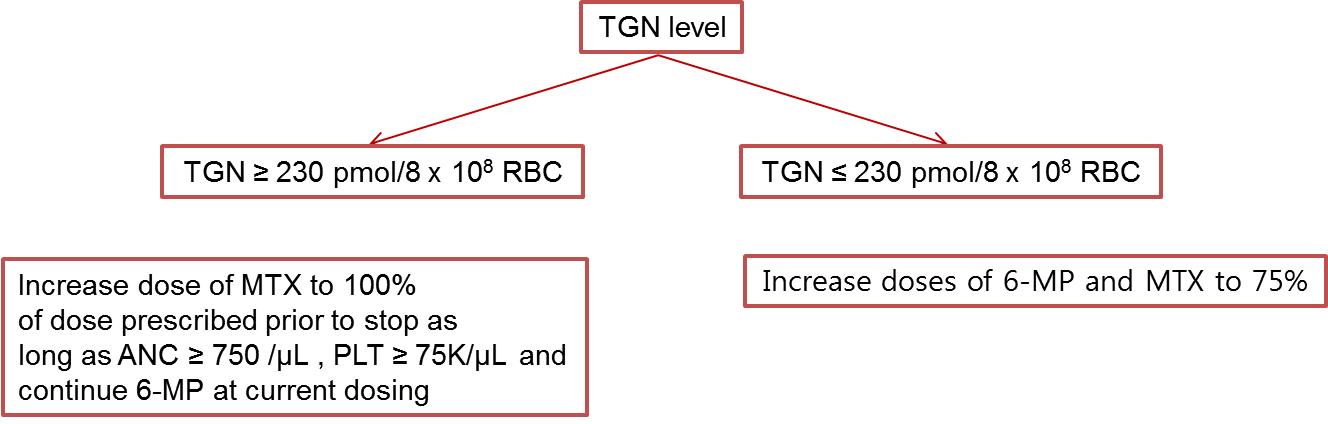
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Allele** | **Caucasian** | **Mediter**  **-ranean** | **South**  **American** | **African** | **Middle**  **Eastern** | **Mexican** | **Asian** | **South West**  **Asian** |
| \*1 | 0.95671 | 0.96081 | 0.95233 | 0.94284 | 0.96987 | 0.92500 | 0.98364 | 0.9783 |
| \*2 | 0.00190 | 0.00408 | 0.00876 | 0.00087 | 0.00749 | 0.00592 | 0 | 0.00250 |
| \*3A | 0.0354 | 0.0254 | 0.0287 | 0.00218 | 0.0114 | 0.0533 | 0.000119 | 0.00583 |
| \*3B | 0.000461 | 0.00426 | 0.000486 | 0 | 0.00562 | 0.00690 | 0 | 0 |
| \*3C | 0.004207 | 0.00545 | 0.00924 | 0.0480 | 0.00562 | 0.00888 | 0.0157 | 0.0133 |
| \*4-\*26 | 0.000057 (\*7)  0.00115 (\*9)  0.0000576 (\*11)  0.0000576 (\*12) | N/A | 0.000486  (\*4) | 0.00611  (\*8) | N/A | N/A | 0.000537  (\*6) | N/A |

- 약물 대사에 관련된 여러 가지 유전자의 genetic polymorphism의 종류와 빈도는 인종별로 차이가 있음이 알려져 있으나, 국내 급성 림프모구 백혈병에서의 보고는 거의 없는 상태임.

- 최근의 Asian studies에서는 서양과 다른 새로운 pharmacogenetic study 결과를 보고하고 있는데, 최근 일본의 연구에 따르면, *TPMT*외에 다른 gene의 variant (*MRP4*의 G2269A를 가진 환자)에서 의미 있게 6-TGN level이 높고 독성 발현이 증가하였음을 보고하였음 (Ban H et al, 2010).

- 서구의 치료 지침과 동일한 용량을 사용할 경우에 국내 환자에서 독성이 높은 이유도 이러한 유전적 polymorphism의 인종적 차이에 기인한 결과일 수 있음.

- 즉, 인종별로 variant allele frequency의 차이가 있어, 서양에서 guideline에 명시된 주요 variant에 대한 pharmacogenetic guideline이 다른 인종에서는 동일한 clinical implementation을 보이지 않음.



<현재 미국 COG에서 사용되고 있는 TGN level에 따른 약물 조절 guideline>

- 따라서 국내 적용을 위해서는 인종간 약물유전체 차이를 고려한 한국인에서의 연구가 필요함.

**2) 연구 가설 및 목적**

- 급성 림프모구 백혈병에서 사용되는 항암제에 대한 국내 소아청소년 환자의 대사 유전체를 분석하여 항암제의 대사체 농도 및 독성과 관련 있는 약물유전체 정보를 확보하고자 함.

- 궁극적으로 약물 부작용을 고려한 개인별 항암제 적정 용량을 투여할 수 있는 전향적 프로토콜을 작성하여, prospective validation을 진행하고자 하며, 본 연구를 통하여 이를 위한 기반 자료를 확보하고자 함.

1. **임상시험용 의약품 및 의료기기 코드명(또는 주성분의 일반명), 원료약품의 분량, 제형 등(대조약 포함)** 해당사항없음
2. **연구대상자의 선정 기준, 제외기준, 목표한 대상자 수 및 산출 근거**
3. **선정기준**

본 기관에서 연구기간 중 급성 림프모구 백혈병으로 치료 받고 있는 21세 이하의 소아청소년 환자

1. **제외기준**

본 연구 참여에 동의하지 않은 환자

1. **목표한 대상자 수 및 산출 근거**

본 연구는 탐색적 연구로서 연구기간 중 가능한 많은 연구대상자를 모집할 예정임. 1년에 본 기관에서 진단, 치료중인 소아청소년 급성 림프모구 백혈병 환자를 고려할 때, 전향적으로 300명 (1년에 약 60명), 후향적으로 약 300명 정도로 총 600명으로 예상됨.

1. **연구 대상자 모집 계획**

* 전향적 연구 대상자 모집은 본 기관에서 소아 급성 림프모구 백혈병으로 치료 받고 있는 모든 대상자를 대상으로 모집할 계획임.
* 해당 대상자의 경우, 부모 또는 법적 보호자에게 연구 내용에 대해 설명하고 참가를 권유하고 참여 의사를 밝히면 연구참가동의서를 받아 연구대상장부에 등록하고 추가적 검체 채취를 하고 연구를 진행함.
* 본 연구에 참여하지 않더라도 어떠한 불이익 없이 기존의 치료를 진행함을 확실하게 설명하고 동의를 받을 예정임.
* 본 연구의 책임연구자 및 공동연구자는 제외기준 외의 어떠한 다른 사유에 의해서도 대상 환자를 배제시키지 않을 것이며, 이 연구의 선정기준에 합당하다면, 가능한 환자들이 이 연구에 참여할 수 있도록 노력할 것임.
* 후향적 연구 대상자의 경우 기승인된 연구계획서 (IRB No. 1102-085-353, “소아청소년 혈액종양 환자의 인체유래물 저장소 구축, 운영 및 활용방안에 대한 계획서”)에 따라 저장된 혈액 인체유래물을 이용할 예정임.

1. **연구 방법**
2. **구체적인 연구방법**

**□ 항암제 대사체 농도 분석**

- 본 연구를 통하여 mercaptopurine과 methotrexate에 대한 분석을 먼저 진행할 예정임.  
- 항암제 대사체 농도 분석은 진단검사의학과 (송상훈 교수)에서 진행할 예정임.

- 본 연구는 저장된 검체로 진행이 불가능하여, 전향적 검체만을 이용할 계획임.

**- Mercaptopurine**

- 기존의 보고 (Pike et al. 2001)를 참고로 하여, 6-MP의 metabolite인 6-TGN (thioguanine nucleotide)과 6-MMPN (methyl mercaptopurine nucleotide)의 농도 분석 방법을 setting

- HPLC technique을 이용

|  |
| --- |
| - **Specimen Requirements** : EDTA 5mL  - **Sample timing** : 6-TGN have a half-life of several days and so there is no need to take a sample at any special time.  **- Steady state concentrations** of 6-TGN are reached at between 2-4 weeks after a dose change. Other institutions suggest a sample for therapeutic drug monitoring is timed at 2 weeks or 4 weeks from the start of treatment or change in dose.  **- Sampling frequency :** 채혈 횟수는 mercaptopurine 시작 후 1-2주 후 처음 방문할 떄 1회, 이후에는 용량 조절을 시행한 경우 2-4주 후 1차례 더 채혈하게 됨. 이에 총 5~10회 정도 채혈하게 될 것으로 예상됨. |

**- Methotrexate**

- 기존의 치료에서 시행하고 있는 프로토콜 중 모니터를 시행함.

- 본원 진단검사의학과에서 setting되어 있는 FPIA (Fluorescence Polarization Immunoassay)방법으로 시행함.

|  |
| --- |
| - **Specimen Requirements** : SST 2mL  - **Sample timing** : 복용 시각과 채혈 시간에 따라 분석이 가능하여, 다른 채혈과 동일한 시점에 진행.  **- Sampling frequency :** 채혈 횟수는 mercaptopurine 시작 후 1-2주 후 처음 방문할 떄 1회, 이후에는 용량 조절을 시행한 경우 2-4주 후 1차례 더 채혈하게 됨. 이에 총 5~10회 정도 채혈하게 될 것으로 예상됨. |

**□ 항암제 투여시 관련 임상 자료 수집**

- 약물 투여 시 간독성 여부 / 골수 억제 여부 (leukopenia, thrombocytopenia) / 독성 발현 정도, 부작용 정도는 CTCAE v 4.0을 사용함.

- 치료 성공 여부 - 재발, 생존 여부,

**□ Next generation sequencing을 이용한 유전체 대량분석**

- 유전체 분석은 의료정보학교실 김주한 교수 연구실에서 진행할 예정임. 분석은 100 case 정도씩 모아서 진행함.

- 환자군 분석 : 첫 번째 유지 요법시 예정된 full dose를 사용하였을 때 2주 이내에 dose reduction이 필요했던 환자들이나, 동일한 용량 사용시에도 Grade 4 이상의 독성이 발생한 경우의 환자를 대상으로 유전체 분석을 시행함.

- 대조군 분석 : 동일한 용량을 예정대로 독성 없이 치료 종료시까지 사용하였던 환자의 검체를 대조군으로 이용하여 분석함.

- 환자군 및 대조군에는 위의 정의를 만족하는 전향적, 후향적 환자 검체 모두를 이용할 예정임.

|  |
| --- |
| - **Specimen Requirements** : EDTA 3mL  - **Sample timing** : 초기 대사체 분석 sample시행 시 1회 시행  - **Sampling frequency :** 1회 |

**- Sequencing**

- 단일 차세대 염기서열 분석법을 사용할 경우 나타날 수 있는 기술적 한계를 보완하기 위해서 Reversible terminator sequencing과 Semiconductor sequencing 두 종류의 차세대 염기서열 분석법을 병행하여 분석한 후 위양성 결과를 제외하여 실험의 정확도를 높이는 과정 (전반적인 연구와 분석을 목적으로 하는 실험에는 한 종류의 차세대 염기서열 분석법을 적용)

- 특정 차세대 염기서열 분석법에만 적용되는 실험 및 분석 방법을 제외한 모든 조건을 동일하게 적용

- 시료 선택 : 차세대 염기서열 분석법의 대상이 되는 DNA 시료 중 1~2개를 무작위로 선정하여 2종류의 차세대 염기서열 분석법을 병행하여 분석

- 염기서열 조각 집합체 생성 : 유전체 DNA를 Oligo primer들을 이용하여 PCR 방법으로 증폭시키고, 생성된 DNA 조각들의 양 끝 부위에 Adaptor를 붙여서 Random primer를 이용하여 증폭 시행.

- 염기서열 분석 : 증폭 이후 생성된 DNA 조각들의 집단을 array나 chip에 주입하여 dNTP와의 상호 작용 시에 나타나는 빛을 촬영하거나 전기 신호를 저장하는 방식으로, 주입된 DNA 조각들 전체에 대한 염기서열 확인

- 미가공 상태의 염기서열 자료를 분석 가능한 형태로 가공하고, 가공된 염기서열 자료로부터 나타난 모든 유전체 변이들을 선별

- 위양성 결과 배제 : 동일한 DNA 시료로부터 선별된 유전체 변이 중 복수의 차세대 염기서열 분석법의 결과로 일치하지 않는 변이들을 위양성 결과로 분류하여 후보군에서 제외

- **Sanger sequencing을 이용한 위양성 결과 배제**

* 선별된 변이 중 차세대 염기서열 분석법의 기술적 한계로 발생한 위양성 결과를 배제하기 위하여 정확도가 높은 Sanger 염기 서열 분석법을 이용하여 실험 결과의 정확도를 높이는 과정

- 시료 선택 : 선별된 변이가 발견된 DNA 시료 전체

- 염기서열 조각 증폭 : 목표 변이가 포함되는 염기서열 조각의 증폭을 위해서 변이의 Upstream과 Downstream 영역에 대응하는 두 종류의 Oligo primer를 제작, DNA 시료와 primer를 이용하여 PCR 방식으로 염기서열 조각을 증폭

- 염기서열 분석 : Capillary sequencer를 이용하여 염기서열의 정보를 획득한 후 Chromatogram에 나타나는 Peak의 형태를 분석하여 차세대 염기서열 분석법에서 얻어진 변이들의 진위 여부를 판정.

- 위양성 결과 배제 : 우선순위가 높은 변이부터 순차적으로 Sanger 염기서열 분석법을 시행하여, 위양성 결과로 확인된 변이들은 후보군에서 제외

- 환자군과 대조군의 분석결과를 비교하여 약물 반응에 영향을 준 것으로 보이는 유효한 후보 유전자 변이를 확보.

**□ 각 약물의 대사체 농도와 독성 및 유효성과의 관련 분석**

- 전체 환자에서 대사체의 농도의 분포 분석

- 각 약물의 대사체의 농도와 독성과의 관련성 분석

- 대사체의 농도와 독성이 나타나지 않는 적정 용량과의 관련성 분석

**(본 연구에서 얻은 자료를 기반으로, 궁극적으로 약물 부작용을 고려한 개인별 항암제 적정 용량을 투여할 수 있는 전향적 프로토콜을 작성하여, prospective validation을 진행하고자 함.)**

1. **비교군 설정 및 무작위 배정 방법**

해당사항 없음.

1. **시험약 투여∙사용량, 투여∙사용 방법, 병용 요법, 대조약 사용시 그 선택사유**

해당사항 없음.

1. **관찰항목**

**1. 질병관련 사항**

- 진단 정보 : 진단명, 진단일, 진단 시 골수 검사 결과, 세포면역검사, 염색체 검사, 뇌척수액 검사결과

- 치료 정보 : 항암치료 내용, 조혈모세포 이식을 시행한 경우 상세 내용

- 치료 결과

**2. 약물 관련 사항**

- 약물 투여 일지 (mercaptopurine 혹은 methotrexate 등의 약물에 따라 용량, 투여일, 용량 변경하는 경우 변경일 및 변경용량, 변경 사유)

- 약물 농도 일지 (채혈일자, 마지막 약물복용시간 및 채혈시간의 차이, 당시 1일 투약 용량, 대사체 농도)

- 약물 투여시 이상 반응 (이상반응 명, 발현일/소실일, 중증도 등)

1. **효과 평가기준, 평가 방법**

해당사항 없음.

1. **기존 치료 및 연구와의 차별점**

본 연구는 탐색적 연구로 치료에 있어서는 차별점이 없음.

* **연구대상자의 이익과 위험**본 연구는 탐색적 연구이며, 치료를 위하여 예정된 채혈 시 소량의 추가 채혈을 진행하는 정도로, 연구대상자에게 예측되는 부작용이나 위험은 없을 것으로 예상됨. 연구용 채혈을 위한 비용은 연구비에서 부담할 계획임.

1. **중지∙탈락 기준**

- 연구대상자 혹은 부모 또는 법적 보호자가 어떤 이유에서든지 탈퇴 의사를 밝히는 경우

- 연구 책임자에 의해 대상 환자의 연구 진행이 어렵다고 판단되는 경우

1. **부작용을 포함한 안전성의 평가기준, 평가 방법 및 보고 방법**

해당사항 없음.

1. **자료안전성 모니터링 계획(DSMP)**

* 본 연구에서 시행되는 채혈은 기존의 진료를 위해 시행되는 채혈에 포함되어 시행될 것이며, 따라서 최소 위험 연구로 판단됨.
* 또한 임상시험이 아니고, 탐색적 연구이므로 DSMP는 해당사항 없음.

1. **자료 분석 및 통계 분석 방법**

* 유전체의 차이가 있는 군간의 임상양상의 분석은 Wilcoxon rank sum test, 상관 관계 분석은 Spearman’s rank correlation test 등의 이용함.
* 생존 곡선은 각 유전체에 따라 Log-rank test의 95% 신뢰구간을 이용하여 비교함.
* 위험 요소는 Cox proportional hazard model을 이용함.

1. **연구수행일정표**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 연 차 (연구기간 : 2015. 3 ～ 2019. 12. 30) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 월  연구내용 (분기) | 2015 | | | | 2016 | | | | 2017 | | | | 2018 | | | | 2019 | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 항암제 복용 환자의 혈중 대사체 농도 분석 | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = |  |  |  |
| 항암제 복용 환자의 약물유전체 검체 수집 | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = |  |  |  |  |  |  |
| 약물 투여 관련 임상 자료 수집 (독성 자료, 치료 결과) | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = | = |  |  |  |
| 유전체 대량 분석 |  |  |  |  |  |  | = | = | = |  |  |  |  |  | = | = | = |  |  |  |
| 결과분석 / 논문 작성 |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  | = | = | = |

1. **연구대상자의 안전보호를 위한 대책**
2. **연구의 윤리성 확보를 위한 기본 방안**

본 계획서에 규정된 절차는 시험 의뢰자 및 연구자가 이 시험을 실시, 평가하고 결과를 기록하는데 있어서 의약품임상시험 관리기준 및 최신의 헬싱키 선언 (2013년 개정) 의 기본정신을 준수하도록 작성되었다. 본 시험은 또한 국내법규에 따라 시행될 것이다. 또한 연구계획서와 동의서 등은 연구 시작 전에 반드시 적합하게 구성된 임상시험 심사위원회/윤리위원회/연구윤리위원회의 검토 및 승인을 받을 것이다.

1. **연구대상자의 동의 과정**

연구자는 본 연구의 대상이 되는 모든 연구 대상자에게 동의서의 내용을 충분히 직접 설명하고 기관윤리위원회 (IRB)에서 승인 받은 동의서에 연구 대상자의 서면 동의를 받아야 한다. 연구 대상자는 동의서에 서면 동의를 제공한 후에만 본 연구에 포함될 수 있다. 연구 대상자가 미성년자인 경우에는 연령별로 연구의 성격과 목적을 이해할 수 있는 능력에 따라 적절한 승낙과 부모(또는 대리인)의 동의를 구한다.

* + 6세 미만: 대리인의 동의와 함께, 소아 연구대상자의 구두 승낙
  + 6~12세: 대리인의 동의와 함께, 소아 연구대상자의 서면 승낙 (Assent)
  + 13~18세: 대리인의 동의와 함께 소아 연구대상자의 서면 동의

연구가 진행되는 동안 미성년자가 성인의 연령에 도달하였을 경우 연구대상자 본인에게 재동의를 취득한다.

1. **연구대상자의 보상 방안**

본 연구는 새로운 약제나 약물 조합에 대한 임상 시험이 아니며, 추가적인 sample 취득 외에 연구 대상자에게 우려되는 위험의 증가가 없는 연구로, 추가적인 경제적인 보상을 없다. 다만 연구계획서에 따른 시험 절차 자체와 직접 관련된 상해가 발생한 경우, 이에 대한 적절한 의학적 조치를 취하고 이에 대한 비용을 보상할 것이다. 이 부분에 대하여 동의서에 명시하고 임상 시험 참여자에게 충분히 설명하고 동의를 받을 예정이다.

1. **연구대상자의 개인정보보호 방안**

* 연구 대상자의 신원에 대한 모든 기록은 비밀보장이 되도록 주의한다. 기본적으로 본 연구에 사용되는 자료와 검체의 label은 신원을 확인할 수 있는 정보를 제거하고 고유식별번호를 부여하는 익명화 작업을 거친 후 수집, 보관한다. 본 연구에 참여한 연구 대상자의 개인 정보 수집과 운영은 연구의 분석에 필요한 경우로 제한한다.
* 모든 임상 자료는 암호로 보호된 컴퓨터의 데이터베이스에 저장되며 모든 연구 데이터는 기밀을 유지할 수 있도록 설문지는 이중 잠금 장치가 있는 연구실에 보관하며 수집한 자료는 패스워드가 걸린 파일에 저장하여 보관하도록 한다.
* 개인 정보의 접근이 필요한 관련 인력들은 연구 대상자의 신원에 대한 비밀 유지에 동의할 것이며, 연구 대상자의 의무기록번호는 책임시험자의 책임하에 별도의 파일로 보관하며 이를 code화하여 연구데이터를 개인 신상확인이 불가능하도록 관리한다. 이외 연구 대상자와 관련된 모든 정보들은 일반 진료 기록에 준하여 보호한다.
* 본 연구와 관련된 자료는 연구가 종료된 시점부터 총 10년간 보관한다.

1. **취약한 연구대상자를 포함하는 경우 추가적인 보호조치 방안**

공여자의충분한 정보에 의한 동의(informed consent)를 얻는다. 이를 위해 검체 제공자 또는 제공자의 법적 보호자에게 공여 결정에 필요한 내용을 충분히 설명하고 충분히 이해한 상태에서 서면동의서를 작성한다. 단, 공여자가 만 18세 미만의 미성년자인 경우에는 법정대리인의 동의를 받는다. 7세 이하는 구두로 승낙을 진행하며, 7-18세 미만은 쉬운 언어로 기술된 소아용 승낙서를 추가로 취득한다.

1. **인체유래물의 보관 및 폐기 방법**

대사체 농도 분석을 시행한 검체는 7일간 진단검사연구실에서 보관 후 폐기한다. 유전자 검사를 위한 검체는 DNA로 추출하여 서울대학교병원 의생명연구원에 비치된 – 80℃의 초저온냉동고에 검사시까지 보관하도록 한다. 보유한 검체 및 유전정보는 신원을 확인할 수 있는 정보를 제거하고 고유식별번호를 부여하여 익명화하여 보관한다. 유전자 검사 후 남은 검체는 향후 10년간 보존하는 것으로 하며, 검체의 수집 상태와 향후 연구를 위한 사용 동의를 받지 못하는 경우에는 폐기한다.

1. **참고 문헌**
2. Abla N, Chinn LW, Nakamura T, Liu L, Huang CC, Johns SJ, Kawamoto M, Stryke D, Taylor TR, Ferrin TE, Giacomini KM, Kroetz DL. The human multidrug resistance protein 4 (MRP4, ABCC4): functional analysis of a highly polymorphic gene. J Pharmacol Exp Ther. 2008;325(3):859-68.
3. Ban H, Andoh A, Imaeda H, Kobori A, Bamba S, Tsujikawa T,et al. The multidrug-resistance protein 4 polymorphism is a new factor accounting for thiopurine sensitivity in Japanese patients with inflammatory bowel disease. 2010; 45(10):1014-21.
4. Bierau J, Lindhout M, Bakker JA. Pharmacogenetic significance of inosine triphosphatase. Pharmacogenomics. 2007;8(9):1221-8.
5. Cheok MH, Evans WE. Acute lymphoblastic leukaemia: a model for the pharmacogenomics of cancer therapy. Nat Rev Cancer. 2006;6(2):117-29.
6. Cheon JH. Allele frequency of thiopurine methyltransferase and inosine triphosphate pyrophosphatase gene polymorphisms in Korean patients with inflammatory bowel diseases. Hepatogastroenterology 2009;56:421-3.
7. Dorababu P, Nagesh N, Linga VG, Gundeti S, Kutala VK, Reddanna P, Digumarti R. Epistatic interactions between thiopurine methyltransferase (TPMT) and inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPA) variations determine 6-mercaptopurine toxicity in Indian children with acute lymphoblastic leukemia. Eur J Clin Pharmacol. 2012;68(4):379-87.
8. Evans WE, Relling MV, Rodman JH, Crom WR, Boyett JM, Pui CH. Conventional compared with individualized chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. N Engl J Med. 1998;19;338(8):499-505.
9. Jun JB, Cho DY, Kang C, Bae SC. Thiopurine S-methyltransferase polymorphisms and the relationship between the mutant alleles and the adverse effects in systemic lupus erythematosus patients taking azathioprine. Clin Exp Rheumatol. 2005;23:873-6.
10. Kim JH. Influences of Thiopurine Methyltransferase Genotype and Activity on Thiopurine-induced Leukopenia in Korean Patients With Inflammatory Bowel Disease: A Retrospective Cohort Study. J Clin Gastroenterol, 2010; 44(10):e242-8.
11. Kim H, Kang HJ, Kim HJ, Jang MK, Kim NH, Oh Y, et al. Pharmacogenetic analysis of pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia: a possible association between survival rate and ITPA polymorphism. PLoS One. 2012;7(9):e45558
12. Kurzawski M, Dziewanowski K, Safranow K, Drozdzik M. Polymorphism of genes involved in purine metabolism (XDH, AOX1, MOCOS) in kidney transplant recipients receiving azathioprine. Ther Drug Monit. 2012;34(3):266-74.
13. Lee SS, Kim WY, Jang YJ, Shin JG. Duplex pyrosequencing of the TPMT\*3C and TPMT\*6 alleles in Korean and Vietnamese populations. Clin Chim Acta. 2008;398:82-5.
14. Marinaki AM, Ansari A, Duley JA, Arenas M, Sumi S, Lewis CM, et al. Adverse drug reactions to azathioprine therapy are associated with polymorphism in the gene encoding inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPase). Pharmacogenetics. 2004;14(3):181-7.
15. Osterman MT, Kundu R, Lichtenstein GR, Lewis JD. Association of 6-thioguanine nucleotide levels and inflammatory bowel disease activity: a meta-analysis. Gastroenterology. 2006;130(4):1047-53.
16. Pike MG, Franklin CL, Mays DC, Lipsky JJ, Lowry PW, Sandborn WJ. Improved methods for determining the concentration of 6-thioguanine nucleotides and 6-methylmercaptopurine nucleotides in blood. J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 2001;757(1):1-9.
17. Pollock BH, DeBaun MR, Camitta BM, Shuster JJ, Ravindranath Y, Pullen DJ, et al. Racial differences in the survival of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. J Clin Oncol. 2000;18(4):813-23.
18. Pui CH, Sandlund JT, Pei D, CampanaD, Rivera GK, Ribeiro RC, et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Total Therapy Study XIIIB at St Jude Children's Research Hospital. Blood. 2004;104(9):2690-6.
19. Rau M, Stickel F, Russmann S, Manser CN, Becker PP, Weisskopf M, Schmitt J, Dill MT, Dufour JF, Moradpour D, Semela D, Müllhaupt B, Geier A; Swiss Hepatitis C Cohort Study Group (SCCS). Impact of genetic SLC28 transporter and ITPA variants on ribavirin serum level, hemoglobin drop and therapeutic response in patients with HCV infection. J Hepatol. 2013;58(4):669-75.
20. Relling MV, Hancock ML, Rivera GK, Sandlund JT, Ribeiro RC, Krynetski EY, et al. Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. J Natl Cancer Inst. 1999;91(23):2001-8.
21. Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, Schmiegelow K, Pui CH, Yee SW, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for thiopurine methyltransferase genotype and thiopurine dosing. Clin Pharmacol Ther. 2011;89(3):387-91.
22. Relling MV, Gardner EE, Sandborn WJ, Schmiegelow K, Pui CH, Yee SW, et al. Clin Pharmacol Ther. 2013;93(4):324-5.
23. Rocha JC, Cheng C, Liu W, Kishi S, Das S, Cook EH, et al. Pharmacogenetics of outcome in children with acute lymphoblastic leukemia. Blood. 2005;105(12):4752-8.
24. Rodrigues P, Furriol J, Bermejo B, Chaves FJ, Lluch A, Eroles P. Identification of candidate polymorphisms on stress oxidative and DNA damage repair genes related with clinical outcome in breast cancer patients. Int J Mol Sci. 2012;13(12):16500-13.
25. Simone JV. Childhood leukemia--successes and challenges for survivors. N Engl J Med. 2003;349(7):627-8.
26. Seto WK, Tsang OT, Liu K, Chan JM, Wong DK, Fung J, Lai CL, Yuen MF. Role of IL28B and inosine triphosphatase polymorphisms in the treatment of chronic hepatitis C virus genotype 6 infection. J Viral Hepat. 2013;20(7):470-7.
27. Somerville L, Krynetski EY, Krynetskaia NF, Beger RD, Zhang W, Marhefka CA, et al. Structure and dynamics ofthioguanine-modified duplex DNA. J Biol Chem. 2003;278(2):1005-11.
28. Sumi S, Marinaki AM, Arenas M, Fairbanks L, Shobowale-Bakre M, Rees DC, et al. Genetic basis of inosine triphosphate pyrophosphohydrolase deficiency. Hum Genet. 2002;111(4-5):360-7.
29. Thierry D, Gary M, Robert B, Mariko M, Mary B, Roselyine B et al. Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Analysis of Erythrocyte Thiopurine Nucleotides and Effect of Thiopurine Methyltransferase Gene Variants on These Metabolites in Patients Receiving Azathioprine/6-Mercaptopurine Therapy. Clinical Chemistry. 2005:51(11):2074-84