

# 비뇨기암의 액체 생검의 연구 현황과 미래

강병진 · 하홍구\*

부산의대 부산대학교병원 비뇨의학과

\*Corresponding author: hongkooa@pusan.ac.kr

## 1. 서론

최근 암 치료 및 예후 관련 연구들은 암세포의 유전적 특성을 분석하여 치료 방향을 결정하는데 활용하고자 하는 것을 핵심 목표로 진행되고 있다. 많은 연구자들이 암세포의 유전적 변이양상(mutational profile)을 평가하여 이를 근거로 적절한 치료방법을 찾아왔다. 하지만, 이러한 유전적 변이양상은 암의 진행과 전이에 따라 지속적으로 변화하는 측면을 보인다. 이로 인해 암세포가 항암제를 포함한 약제에 대한 저항성을 획득하게 되고 결국엔 환자의 암 관련 사망에 주요 원인이 되어왔다 [1]. 그렇기 때문에 원발암 부위와 전이부위 모두의 유전적 특성을 확인하는 것이 중요하다. 예전에는 이러한 분석을 하기 위해서는 암의 전이 부위에서 조직을 떼어내어 생검(solid biopsy)해야만 했다. 하지만 조직을 떼어 내려면 수술적 치료가 필요하고 경우에 따라서 종양에 접근하여 제거하기엔 위험한 경우가 많아 생검이 불가능한 경우가 많다. 그리고 종양 내 비균질성(heterogeneity) 등으로 인해 생검 결과가 전체 종양의 특성을 반영하는가에 대한 근본적인 의문이 있어왔다 [2,3]. 게다가, 원발병소와 전이병소 간에 유전적 차이 때문에 특정 병소의 조직생검 결과를 바탕으로 암종의 유전적 변이양상을 해석하기에 무리한 측면이 있고, 종양의 유전적 변화에 대한 지속적인 모니터링을 위해 여러 번의 조직 생검을 하기 어려운 것이 현실이다.

표 1. 전통적인 조직 생검과 액체 생검의 각 장점과 한계점 비교 [2]

조직 생검 ( Tissue Biopsy )	액체 생검 ( Liquid Biopsy )
표준화된 암 진단 방법으로 사용되고 있음	임상적용을 위한 연구 단계
조직학적 분석 및 병기 설정 가능	유리 암세포만 조직학적 분석 가능
검체 획득 불가능한 경우 있음	쉽게 검체 획득 가능 조직 생검 보다 빠르게 재검 가능 혈액 및 체내분비물에 소량 존재 위음성 위험성
침습적 술기를 요구 조직검사 후 합병증 발생 가능	최소 침습적 술기로 가능
국소적 분석만 가능 고등급 병기 혹은 전이성 종양에서 종양 내부 혹은 종양 병소간의 이질성(heterogeneity)을 반영하지 못함	충분한 DNA를 확보할 수 있는 경우, 이론적으로 종양 내부와 각 병소 간의 이질성을 반영하여 종합적인 분석 가능
연속적인 모니터링 불가함 암종의 분자적 변형을 실시간으로 분석하지 못함	연속적인 모니터링 가능 환자의 치료나 예후 경과관찰 중 어느 시점에서든 검사 가능 암종의 유전적 변형을 실시간으로 경과관찰 가능 함



The Association of Korean Urologist  
3(3):94-101, 2022  
URL: www.urodigest.com

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2022 by The Association of Korean Urologist. All Rights Reserved.

최근 이러한 조직 생검의 한계를 극복하며 보다 덜 침습적이고 실시간으로 암 조직의 유전적 변화를 관찰할 수 있는 검사방법이 개발되어 왔는데, 조직 생검의 대안으로 제시되고 있는 것이 액체 생검(liquid biopsy)이다 [2]. 혈액과 소변을 대표적으로 활용하는 액체 생검은 특정 시기의 체내 암종의 모든 subclone을 반영하고 암종의 유전적 변이를 연속적으로 모니터링 할 수 있을 것이라 기대를 받고 있다 [1]. 액체 생검 분야 연구 초기에는 액체 생검 검체를 분석하는 방법의 효율 및 비용 면에서 한계가 있어 연구개발에 어려움이 많았으나 최근에는 차세대염기서열(Next Generation Sequencing, NGS)을 활용한 유전체 분석 기술이 발전하면서 암세포에서 유리된 세포, 유전체 등을 분석에 활용하기가 매우 용이해졌다 [4].

액체 생검 연구 초기에는 대부분이 유리 암세포(Circulating Tumor Cells, CTC)를 대상으로 한 결과를 보고했었으나 현재는 그 범위를 넓혀 세포 유리 핵산들(DNA, 메신저RNA, 비암호화RNA e.g. 마이크로RNA, 긴 비암호화RNA), 엑소좀(exosomes) 혹은 종양혈소판(tumor educated platelets)까지 연구 대상이 확대되어 왔다 [2]. 많은 연구자들이 그 중에서도 유리 암세포, 유리 암 DNA (Circulating Tumor DNA, ctDNA), 엑소좀을 액체 생검의 대상으로 선정하여 결과를 발표하고 있다.

## 2. 비뇨기계 암의 액체 생검 연구 근황

신장암, 방광암, 그리고 전립선암은 비뇨기계의 대표적인 암종으로 그 유병률과 사망률이 최근 몇 년 사이 지속적으로 증가하는 추세로 알려져 있다 [5]. 이와 같은 유병률 증가에도 해당 비뇨기계 암종에 대한 바이오마커 개발이 타 장기 암종들에 비해서 부족한 상황으로, 전립선암의 경우 현재까지 PSA (prostate-specific antigen)를 주요한 바이오마커로 활용 해왔으나, 여전히 진단을 위해서는 전립선 조직검사가 필수적이고 과진단(overdiagnosis)과 과치료(overtreatment)를 야기하는 경향이 있어왔다 [6,7]. 신세포암은 스크리닝을 위한 특정 바이오마커는 정립된 것이 없으며 대부분이 검진 목적의 복부 검사 중 우연히 발견되어 진단된다 [8]. 또한, 진행성 신세포암은 표적치료와 면역치료를 주요한 치료방법 활용하고 있긴 하지만 여전히 그 반응률이 낮고 바이오마커를 기반으로 한 치료 전략이 부족한 상태다 [9]. 이처럼, 비뇨기계암은 폐암의 EGFR (epidermal growth factor receptor)나 유방암의 HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) 와 같은 진단/치료의 주요한 역할을 할 만한 바이오마커가 부족한 상황이다 [10]. 비뇨기계암의 진단 및 예후예측을 위한 바이오마커의 부족을 극복하기 위해서 액체생검 연구들이 이뤄져 왔고 유리 암세포, 유리 암 DNA, 그리고 엑소좀을 중심으로 활발한 연구가 진행 중이다.

### 2.1. 유리 암세포(CTC)

유리 암세포는 원발암 병소나 전이병소에서 유리된 암세포가 체내 순환계로 배출되는 것을 지칭한다. 순환계 내에서 짧은 반감기(<1-2.5 시간)와 혈액 내 상대적으로 적은 숫자만 존재하는 것이 바이오 마커로서 제한점으로 작용한다고 알려져 있다.

#### 2.1.1. 신장암

지금까지 알려진 신장암의 유리 암세포를 활용한 액체 생검 연구 결과에 따르면, 유리 암세포의 탐지확률은 신세포암의 병기가 올라가면서 증가하였으며 전이 유무에 따라서 탐지 확률에 유의미한 차이가 있었다고 한다. 또한, 탐지되는 유리 암세포의 숫자는 전이성 신세포암에서 크게 증가했으며 특히나 4기 신세포암에서는 수술 전 다른 병기보다 유독 유리 암세포의 숫자가 크게 증가되어 있는 것을 확인하였다. 하지만, RENAL score, Fuhrman grade, 혹은 신장맥 침

범 유무와 유리 암세포의 숫자와는 뚜렷한 연관 관계가 없는 것으로 보고되었다 [11]. 이렇게, 유리 암세포를 신장암의 예후 예측 인자 및 치료 반응에 대한 바이오마커로 활용할 수 있을지에 대해서 연구마다 차이가 있어 임상현장에서 유리 암세포를 활용한 액체 생검의 가능성을 논하기에는 이른 상태다. 유리 암세포 탐지기술의 정확성이 향상되고 유리 암세포의 정의와 탐지 방법 등이 표준화되는 것이 필요하며 이에 맞춘 연구 결과가 좀 더 축적되어야 임상현장에서 활용 가능할 것으로 사료 된다 [12].

### 2.1.2. 방광암

Rink 외 여러 연구에서 발표된 내용에 따르면, 방광암으로 방광절제술을 시행한 환자 중에서 유리 암세포가 발견되는 환자군에서 더 높은 재발률과 더 나쁜 암 특이적 생존율(cancer specific survival)을 보였다고 한다 [13,14].

현재 방광암 환자에서 유리 암세포 내에 존재하는 유전자 발현이나 전사체를 탐지하기 위해서 RT-PCR과 같은 기술이 적용되고 있으며 유리 암세포의 분자적·기능적 특성들에 대한 연구가 활발히 진행 중이다. 지금까지 발표된 연구 결과에 따르면, EGFR, KRT19, UPKII, 그리고 TNC (tenascin C) 같은 전사체들을 유리 암세포 내에서 발견하였고 이것들이 방광암의 예후와 연관관계를 가지는 것으로 알려져 있다. 또한, 유리 암세포 내부에서 UPKII, BRC5, IGFBP7, SNX16, CSPG6, CTSD, CHD2, NELL2, TRFRSF7 같은 유전자들이 방광암의 진행상태에 따라서 유전자 발현량에 차이를 보이고 이를 이용하여 원격 전이를 일찍 탐지하거나 예후예측인자로 활용해보고자 하는 연구들이 이어지고 있다 [13].

### 2.1.3. 전립선암

전립선암 연구 분야에서도 유리 암세포의 생물학적·물리적 특성을 이용한 연구가 이뤄져 왔다. 유리 암세포에서 주로 발현되는 특정 항원(EpCAM, DAPI 등)과 발현되지 않는 항원들(CD45, CD66b 등)을 이용하여 유리 암세포 탐지에 활용하기도 하였으며 유리 암세포가 정상세포와 다른 물리적 특징을 가지는 것을 활용하여 탐지 및 전립선암 진단에 활용하는 방안들이 제시 되어 왔다 [15]. de Bono 등이 발표한 연구에 따르면, 전이성 거세저항성 전립선암의 전체 생존률(overall survival, OS), 암특이적 생존율(cancer-specific survival), 그리고 무진행 생존율(progression-free survival)이 유리 암세포와 연관성이 있었고 이를 근거로 유리 암세포를 바이오 마커로서 활용 가능성을 보고하였다 [16].

## 2.2. 유리 암 DNA (ctDNA)

세포 유리 DNA (cell free DNA, cfDNA)는 200bp 미만의 짧은 DNA 분절로, 세포자살이나 정상 세포나 암세포의 괴사 과정에서 세포 밖으로 유리된다. 대략적으로 인간에서 발생하는 암종의 절반에서 이러한 세포 유리 DNA가 발견된다고 한다 [17]. 세포 유리 DNA는 다양한 세포에서 기원되는 것으로 알려져 있으며 이들 중에서 암세포에서 기인된 것을 유리 암 DNA라고 부른다. 암세포의 유리 암 DNA 분절은 정상 세포의 세포 유리 DNA 분절보다 짧은 것으로 알려져 있고 이러한 유리 암 DNA의 반감기는 16분에서 수시간 정도이다 [15].

### 2.2.1. 신장암

전이성 암종의 위치에 따라서 유리 암 DNA의 발견 확률이 다르다고 알려져 있는데, 방광, 췌장, 대장, 유방, 간, 위암의 경우에는 75% 이상의 환자에서 유리 암 DNA가 발견되는 반면, 전이성 신장암, 전립선암, 그리고 갑상선암에서는 유리 암 DNA의 발견 확률이 50% 미만인 것으로 확인 되었다. 그리고 암종의 병기가 올라갈수록 유리 암 DNA의 농도

가 공통적으로 증가하였다고 한다. 이러한 이유로, 신장암에서 한 번의 유리 암 DNA를 탐지하고 유전적 변이를 분석하는 것은 당시 조직내 유전자 분석과 일치하지 않는 경향이 많다고 알려져 있다. 이에, 여러 번 유리 암 DNA 분석을 시행하여 신장암의 진단 및 재발 여부, 예후 예측에 활용 가능성을 확인한 연구들이 진행 되어왔다.

신장암의 유리 암 DNA에 대한 질적 분석을 시행한 연구들에 따르면, 유리 암 DNA의 TSC1/TSC2/MTOR 유전자 변형 여부를 이용하여 전이성 신장암의 표적치료 반응률을 예측하는데 근거로 활용할 수 있다고 하였다. 그 외에도 신장 암 악성도와 관련 있는 SETD2, PBRM1, BAP1, KDM5C, MTOR 유전자들의 돌연변이를 유리 암 DNA 분석 시 확인하여 예후 예측에 도움을 얻을 수 있다는 것으로 보고 되었다 [18].

유리 암 DNA의 양적 분석을 한 사례들을 살펴보면, 유리 암 DNA 상 여러 유전자들의 과메틸화(hypermethylation)를 이용하여 진단 바이오마커로 활용하고자 하는 방안들이 제시 되었다. 여러 유전자들의 메틸화 빈도를 분석해본 결과, 신장암 진단에 민감도가 62.9% 그리고 특이도는 87% 였다고 하며 특히 SHOX2 유전자의 메틸화를 조직과 유리 암 DNA 상에서 확인한 것을 근거로 고병기의 암 진단 및 수술 이후 재발 / 사망을 예측하는 중요한 단서로 활용할 것 이라고 분석 하였다 [19].

### 2.2.2. 방광암

유리 암 DNA 상 유전적 변이와 관련한 연구들에 따르면 요로상피암의 진단과 병기 설정에 유리암 DNA의 활용 가능성을 발견하였고 이를 세포검사(cytology)와 함께 적용한 검사방법이 FDA에 승인 받기도 하였다 [20]. 그 외 에 다른 연구 그룹에서는 FGFR3, ERBB2, EGFR 등 방광암과 관련되어 있는 것으로 알려져 있는 유전자의 변이를 유리 암 DNA 상에서 함께 확인할 수 있는 검사패널이 개발하여 적용하였다고 보고하였다 [21]. 하지만, 유전자변형에 관한 연구와는 달리, 유리 암 DNA 내 유전자 발현을 활용한 방광암 분석에서는 많은 논란이 남아있는 상태로 이와 관련한 추가적인 연구가 필요한 상황이다.

현재까지 방광암 환자를 대상으로 한 유리 암 DNA 채집에 표준화된 방법은 없는 상황이다. 이를 위한 가장 최선의 채집방법이 무엇일지에 대한 추가적인 실험과 연구가 필요하다. 또한, 암 유리 DNA 상 유전적 변이가 종양 조직 내 유전적 변이를 반영하는 지에 대한 의문이 아직 남아 있는 상태이며 이를 활용한 진단과 예후예측 가능성 또한 좀 더 많은 연구 결과를 확인해야만 가능 할 수 있을 것 이다.

### 2.2.3. 전립선암

전립선암에서 유리 암 DNA에 관한 연구는 그 특징적인 분절패턴에 초점을 맞춰 진행되어 왔는데 이러한 특징을 활용하여 전립선암 진단의 도움을 줄 수 있다는 가능성을 확인한 연구가 보고 되었다 [15]. 또한, 전이성 거세저항성 전립선암 환자의 암 유리 DNA의 특징적인 유전체 프로파일을 활용하여 치료 및 예후 예측에 활용 가능한 바이오마커로 개발할 수 있을 것으로 기대되고 있다 [22].

체액 중 암 유리 DNA의 농도와 비율이 전립선암의 중요한 예후예측 바이오마커가 될 수 있는데, 암이 진행됨에 따라서, 암 유리 DNA의 농도가 증가하며 이는 전체 생존율(overall survival) 저하와 연관되어 있음이 보고되었다. 하지만, 암 유리 DNA 내에 발생한 변이가 원발 전립선암 병소나 전이 병소 조직 내 유전자 변이와 일치하여 나타나는 지는 여전히 의문으로 남아 있어 더 많은 연구가 필요하다. 한편, 암 유리 DNA가 약물 혹은 방사선 치료에 대한 반응으로 유전적 변화를 일으키는 것을 실시간으로 추적 관찰하여 치료 효과와 초기 진행을 모니터링하는데 도움을 받을 수 있을 것으로 기대 하고 있다 [23].

### 2.3. 엑소좀(Exosome)

엑소좀은 세포 외로 분지되는 소포체로 지질 이중층 구조를 이루고 있다. 이것들은 세포 사이 신호전달에 중요한 역할을 한다고 알려져 있고, 그 외에도 세포 분화, 세포 이동, 그리고 정상 조직 상태를 유지하는데 관여한다. 엑소좀은 정상 세포(상피, 중간엽, 그리고 면역 세포) 뿐만 아니라 암세포에서도 분비되어 혈액, 소변, 객담에까지 검출된다. 엑소좀은 암세포의 단백질, 지질, 대사체, RNA(메신저RNA 그리고 마이크로RNA 등), 그리고 DNA를 함유하면서 세포에서 분비된다. 이때 특정 표면 단백질들이 작용하게 되는데 이것들을 활용한 바이오마커 개발 연구가 이뤄지고 있다. 또한 엑소좀은 내부의 유전정보를 타 세포에 전달하는 역할을 하는데 이를 통해 암종의 원격 전이가 발생한다는 연구 결과들이 발표되었다 [14,15]. 엑소좀의 탐지는 원심분리를 이용하는 것이 최근 표준적인 방법이 되었고 최근에는 추가적으로 필터링 기법, 밀도차를 이용한 방법, 크로마토그래피까지 적용 중인 사례들이 보고 되고 있다.

비뇨기계암에서는 특히 소변내 존재하는 엑소좀의 유전체 분석을 활용한 액체 생검 분야가 각광받았는데, 비뇨기계암이 특징적으로 소변이 생성되고 이동, 배출하는 경로 중에 주로 발생하는 암종으로 종양세포가 소변으로 직접적으로 엑소좀을 배출하기 때문이다 [10,24]. Xu 등이 소변 내 엑소좀을 활용한 비뇨기계암 진단에 관한 체계적 문헌 고찰을 한 연구에 따르면 엑소좀을 활용한 전체 진단 민감도와 특이도가 각각 0.83 (95% CI, 0.78-0.88) 그리고 0.88 (95% CI, 0.81-0.92) 이었다. 엑소좀 내 분석 대상에 따라서 비교해 보았을 때 핵산 분석을 한 그룹에서 민감도가 0.84 (95% CI 0.78-0.89) 그리고 특이도가 0.89 (95% CI 0.82-0.93)로 확인되었고 비핵산 분석 그룹에 비해서 진단 민감도와 특이도에 유의미한 차이는 보이지 않았다 [10]. 이러한 소변 내 엑소좀을 활용한 진단 방법은 기존에 해왔던 소변 세포검사(Urine cytology)가 비교적 낮은 민감도(7-17%)를 가지는 것에 대비해 뚜렷한 장점이라고 할 수 있다 [25].

#### 2.3.1. 신장암

신장암에서 엑소좀은 중요한 병인성 작용을 하는데, 투명세포타입의 전형적인 신세포암에서 기원한 엑소좀에는 자연살해세포(natural killer cell)의 작용을 억제하는 TGT-b1의 발현이 증가되어 있다고 하며 신세포암의 암 줄기세포(cancer stem cell)에서 기원한 엑소좀은 암조직의 증식을 촉진하고 투명세포타입의 신세포암의 상피에서 중간엽으로의 전이(epithelial-mesenchymal transition, EMT)를 유발하여 암의 타장기 침투와 원격 전이를 유발한다고 알려져 있다 [26].

그 외에도 엑소좀을 신장암의 바이오마커로 활용하기 위한 연구들이 진행 중이며 특히 소변에서 검출되는 엑소좀 내부의 마이크로RNA 연구가 대표적이다.

엑소좀 내 마이크로RNA 중 miR-126-3p와 miR-449a 혹은 miR-34b-5p를 활용하여 투명세포형 신세포암을 진단 내릴 수 있는 가능성을 제시한 연구가 보고되었고 그 외에 다른 마이크로RNA들을 활용한 진단 바이오마커 연구가 현재까지 지속되고 있다. 또한, 신세포암의 냉동치료(cryoablation) 전후에 특정 마이크로RNA가 감소하는 것에 착안하여 치료반응을 모니터링하는 바이오마커의 활용 가능성을 제시한 연구도 보고 되었다 [27]. 한편, Xu 등은 신장암의 엑소좀에 의해서 자극 받은 면역세포(CD8 T cell)를 GM-CSF와 인터루킨-12와 결합시켜 자가 항암효과를 실험실상에서 구현한 결과도 발표 하였다 [28]. 이러한 연구들을 바탕으로, 향후에는 엑소좀을 활용하여 신장암의 진단에서부터 예후예측, 치료목적으로 사용 가능하게 될 것으로 기대 되고 있다 [29].

#### 2.3.2. 방광암

방광암 세포에서 분지되어 나온 엑소좀은 혈액과 소변에서 검출되며 이 엑소좀에는 단백질, 핵산 등이 포함되어 세

포 기능 및 방광암의 진행 및 전이와 연관된 기능적 요소들을 안정적으로 함유하고 있다고 알려져 있다 [30]. 이를 활용한 방광암의 진단 및 예후 인자 개발 연구가 활발히 이뤄졌다.

엑소솜 내에 존재하는 긴 비암호화 RNA (long-noncoding RNA, lncRNA)와 마이크로RNA들을 분석한 결과에서는 긴 비암호화RNA가 세포 간의 신호전달에 관여하고 비침습적인 방광암 진단 바이오마커로 활용 가능성이 높다고 알려져 있으며, 마이크로RNA를 함께 탐지하여 방광암의 진단에 활용한 연구에서는 AUC 값이 0.854에 이르러 기존에 임상 현장에서 사용 중인 소변내 세포검사(cytology)보다 방광암 진단에 우수한 성적을 보였다. 또한 lncRNA PCAT-1 같은 특정 긴 비암호화RNA는 독립적인 예후예측인자로 적용할 수 있었고 그 외에도 특정 긴 비암호화RNA 발현량의 증가된 경우에 비근육침범 방광암(non-muscle invasive bladder cancer)의 무재발 생존기간이 다른 환자군에 비해 짧은 것으로 보고 되었다 [31]. 그 외에도 소변에서 검출한 엑소솜 내 마이크로RNA 등을 분석하여 방광암에서 암의 원격 전이와 진행, 세포자살 등과 관련성이 여러 연구에서 확인 되었다. 이러한 결과들을 바탕으로 체액 내 엑소솜을 활용하여 방광암의 진단과 예후예측에 중요한 비침습적 바이오마커로 활용할 수 있을 것으로 기대 된다 [32].

### 2.3.3. 전립선암

전립선암에서 엑소솜은 암의 진행과 연관되어 있다고 알려져 있다. 엑소솜은 암세포의 세포자살을 막고 면역회피, 항암저항성 전달, 암세포의 이동 및 정상조직 침투에 관여하는 것으로 보고되고 있고 내부에 있는 지질, 단백질, 전사체들을 전달하는 역할을 한다.

이 중에서 엑소솜내에 존재하는 전사체를 대상으로한 연구들이 진행 중 으로, PSA, PCA3, ERG, AR, 혹은 AR-V7의 전사체 분석(ddPCR, real-time PCR, and RNA-seq)이 다양하게 이뤄지고 있다 [13].

엑소솜 내 전사체를 분석하여 전립선암의 진단, 예후 예측 그리고 치료 전략에 엑소솜을 활용할 수 있는 가능성을 보인 사례들을 여러 연구 그룹에서 발표하였다. 엑소솜을 분석하여 악성도가 높은 전립선암을 판별하고 치료저항성을 미리 예측할 수 있다는 보고가 있었고, 그 외 다른 연구에서는 조직검사 당시 PSA수치가 grey zone에 해당하는 환자들 중에서 악성도가 높은 암을 소변 내에 존재하는 엑소솜을 분석하여 감별할 수 있었다고 발표 하였다 [23]. 또한, 엑소솜 내부에 마이크로RNA 프로파일을 분석하여 전립선암의 진단/예후 예측/치료 반응과의 연관성을 제시한 논문들이 다수 발표되었다. miR-141, miR-375, miR-21 그리고 let-7가 주요 대표적인 마이크로RNA 로 알려져 있다. 연구자들은 재발성 전이성 전립선암에서 혈중 엑소솜 내에 miR-141과 miR-375가 재발하지 않은 환자군에 비해 과발현 되어 있는 것을 확인하였고 특히, miR-141은 전립선비대증 환자 및 건강 대조군과 비교하였을 때 발현에 차이를 보여 진단/예후 예측의 주요한 바이오마커로 가능성을 제시 하였다. 또한, 전립선암 환자군에서 방사선 치료에 따라서 엑소솜 내에 마이크로RNA를 포함한 분자프로파일이 변화하는 것을 활용하여 치료 반응을 예측할 수 있는 가능성을 보여준 연구결과도 있었다 [33].

## 3. 액체 생검 제한점 관련 내용

액체 생검은 앞서 다뤘던 많은 가능성을 가지고 있는 진단 방법으로 그 가치를 점점 인정받고 있다. 하지만 아직까지 임상현장에서 활용하기 위해서는 많은 난관이 있다. 액체 생검을 위해 검체를 채취하고 분석하는 방법이 확립되어 있지 않으며 정상 세포 구성물질로 인한 오염 가능성으로 정확성에 대한 의문점이 남아 있다. 또한, 액체 생검에 활용하는 검체들은 반감기가 조직생검 검체 보다 현저하게 짧기 때문에 검체 채집부터 분석까지 빠른 시간내에 이뤄져야만 하는 어려움이 있다. 이러한 제한점들을 극복하기 위해서 차세대 염기서열분석(NGS) 및 중합효소연쇄반응(PCR)의 기술

적 보완, 발전이 뒷받침되어야 할 것이다 [34].

소변 샘플을 이용한 액체 생검은 비뇨의학과 영역에서 주목받고 있기는 하지만 혈액샘플 보다도 각종 오염 가능성이 높고 이로 인한 DNA 손상 혹은 중합효소연쇄반응에 오류가 발생할 가능성이 더 높은 점이 큰 한계점이다. 예를 들어, 소변 속에 고농도로 존재하는 요소(urea)는 중합효소연쇄반응에서 작용하는 polymerase를 억제한다고 알려져 있고 그 외에도 각종 핵산분해효소들(DNase 혹은 RNase)이 세포 유리 DNA를 분해할 수 있어 분석에 제한점으로 작용할 수 있다 [35].

#### 4. 결론

액체 생검은 아직 정확성과 실험방법의 비표준화 등의 제한점들이 존재하지만, 전통적인 조직 생검에 비해 두드러지는 장점들이 충분하다. 특히나 비뇨기계암은 혈액과 더불어 소변을 활용한 액체 생검을 하기 용이하기 때문에 이를 활용한 스크리닝/진단 및 치료 예후 평가 등에서 활용 가능성이 매우 높을 것으로 기대된다.

#### References

1. Mader S et al., Liquid Biopsy: Current Status and Future Perspectives, *Oncol Res Treat*, 2017
2. Poulet G et al., Liquid Biopsy: General Concepts, *Acta Cytol*, 2019
3. Allott EH et al., Intratumoral heterogeneity as a source of discordance in breast cancer biomarker classification, *Breast Cancer Res*, 2016
4. Chen M et al., Next-generation sequencing in liquid biopsy: cancer screening and early detection, *Hum Genomics*, 2019
5. Siegel RL et al., Cancer statistics, *CA Cancer J Clin*, 2020
6. Vickers AJ et al., A panel of kallikrein markers can reduce unnecessary biopsy for prostate cancer: data from the European Randomized Study of Prostate Cancer Screening in Goteborg, Sweden. *BMC Med*, 2008
7. Ferro M et al., Biomarkers in localized prostate cancer, *Future Oncology*, 2016
8. Vasudev NS et al., Renal cancer biomarkers: the promise of personalized care, *BMC Medicine*, 2012
9. Larroquette M et al., Adjuvant therapy in renal cell carcinoma: Current knowledges and future perspectives, *Cancer Treat Rev*, 2021
10. Xu Y et al., Urinary Exosomes Diagnosis of Urological Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis, *Front Oncol*, 2021
11. Haga N et al., Perioperative Detection of Circulating Tumor Cells in Radical or Partial Nephrectomy for Renal Cell Carcinoma, *Ann Surg Oncol*, 2020
12. Palmela Leitao T et al., Circulating tumor cell detection methods in renal cell carcinoma: A systematic review, *Crit Rev Oncol Hematol*, 2021
13. Kouba E et al., Liquid biopsy in the clinical management of bladder cancer: current status and future developments, *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 2019
14. Kawamura Y et al., Extracellular vesicles as trans-genomic agents: Emerging roles in disease and evolution, *Cancer Science*, 2017
15. Casanova-Salas I et al., Quantitative and Qualitative Analysis of Blood-based Liquid Biopsies to Inform Clinical Decision-making in Prostate Cancer, *Eur Urol*, 2021
16. De Bono JS et al., Circulating Tumor Cells Predict Survival Benefit from Treatment in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer, *Clinical Cancer Research*, 2008

17. Aghamir SMK et al., Liquid Biopsy: The Unique Test for Chasing the Genetics of Solid Tumors, *Epigenet Insights*, 2020
18. Voss MH et al., Tumor genetic analyses of patients with metastatic renal cell carcinoma and extended benefit from mTOR inhibitor therapy, *Clin Cancer Res*, 2014
19. Cimadamore A et al., Emerging Molecular Technologies in Renal Cell Carcinoma: Liquid Biopsy, *Cancers*, 2019
20. Hayashi Y et al., Clinical Significance of Hotspot Mutation Analysis of Urinary Cell-Free DNA in Urothelial Bladder Cancer, *Front Oncol*, 2020
21. Herranz R et al., Circulating Cell-Free DNA in Liquid Biopsies as Potential Biomarker for Bladder Cancer: A Systematic Review, *Cancers (Basel)*, 2021
22. Hawkey NM et al., Liquid Biopsy: It's the Bloody Truth!, *Clinical Cancer Research*, 2021
23. Wang Y et al., Liquid biopsy in prostate cancer: current status and future challenges of clinical application, *Aging Male*, 2021
24. Merchant ML et al., Isolation and characterization of urinary extracellular vesicles: implications for biomarker discovery, *Nat Rev Nephrol*, 2017
25. Lokeshwar VB et al., Current bladder tumor tests: does their projected utility fulfill clinical necessity? *J Urol*, 2001
26. Wang L et al., CD103-positive CSC exosome promotes EMT of clear cell renal cell carcinoma: role of remote MiR-19b-3p, *Mol Cancer*, 2019
27. Zhang J et al., Distinct non-invasive evaluation values of tumor-derived cell-free microRNAs, circulating microvesicles and exosomal microRNAs after renal carcinoma cryoablation, *Biochem Biophys Res Commun*, 2018
28. Xu HY et al., CD8+ T cells stimulated by exosomes derived from RenCa cells mediate specific immune responses through the FasL/Fas signaling pathway and, combined with GM-CSF and IL-12, enhance the anti-renal cortical adenocarcinoma effect, *Oncology Reports*, 2019
29. Thongboonkerd V. Roles for Exosome in Various Kidney Diseases and Disorders, *Front Pharmacol*, 2019
30. Zhan Y et al., Expression signatures of exosomal long non-coding RNAs in urine serve as novel non-invasive biomarkers for diagnosis and recurrence prediction of bladder cancer, *Molecular Cancer*, 2018
31. Zhang S et al., Evaluation of serum exosomal lncRNA-based biomarker panel for diagnosis and recurrence prediction of bladder cancer, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2019
32. Geng H et al., Exosomes in bladder cancer: novel biomarkers and targets, *J Zhejiang Univ Sci B*, 2021
33. Wang J et al., Exosomal microRNAs as liquid biopsy biomarkers in prostate cancer, *Crit Rev Oncol Hematol*, 2020
34. Franceschini T et al., Liquid biopsies in urological cancers: what we need to know before starting using them, *Expert Rev Mol Diagn*, 2020
35. El Bali L et al., Comparative study of seven commercial kits for human DNA extraction from urine samples suitable for DNA biomarker-based public health studies, *J Biomol Tech*, 2014