

## 골수이형성 증후군과 Epstein-Barr Virus 및 Human Parvovirus B19 감염의 관련성 검토

이경아 · 최종락 · 송경순

연세대학교 의과대학 임상병리과학교실

### Relationship between Myelodysplastic Syndrome and Epstein-Barr Virus or Human Parvovirus B19 Infection

Kyung A Lee, Jong Rak Choi, and Kyung Soon Song

Department of Clinical Pathology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

**Background :** The mechanisms responsible for the disturbed hematopoiesis in myelodysplastic syndrome (MDS) include the expansion of abnormal clones, defects in cellular differentiation and the perturbation in the production of hematopoietic regulatory factors. Recently, viral infection such as immunodeficiency virus is known to induce myelodysplasia. And viral infection evokes the production of several cytokines. Therefore, abnormal production of cytokine may be a potential candidate for the pathogenesis of MDS after viral infections such as Epstein-Barr virus (EBV) and human parvovirus B19.

**Methods :** We investigated bone marrow aspiration slides from 17 patients with MDS referred for the bone marrow study, over a period from January, 1992 to April, 1996. To clarify the contribution of EBV and human parvovirus B19 infections to the pathogenesis of MDS, DNA-PCR for EBV and human parvovirus B19 was used.

**Results :** The EBV and human parvovirus B19-PCR results were all negative in 17 patients with MDS.

**Conclusions :** EBV and human parvovirus B19 infections may not be associated with the major pathogenesis of MDS.

**Key words :** Myelodysplastic syndrome, Epstein-Barr virus, Human parvovirus B19

## 서 론

골수이형성 증후군은 말초혈액에서 범혈구 감소와 골수 조직에서의 조혈 세포 형성 장애를 특징으로 하는 클론성 질환의 일종이다. 골수이형성 증후군에서 나타나는 조혈 세포 형성 장애의 원인으로 비정상적인 클론의 증가, 세포 분화의 결함 및 조혈 작용을

조절하는 인자의 형성 장애 등이 알려져 있다[1, 2]. 최근에는 human immunodeficiency virus (HIV)와 같은 바이러스 감염이 골수이형성증을 유발할 수 있다고 보고되고 있어서, 바이러스 감염에 의한 비정상적인 사이토카인 분비가 복합적인 골수이형성 증후군의 병인 중 하나로서 제시되고 있다[3, 4].

Epstein-Barr virus (EBV)는 비인두 종양[5], Burkitt 림프종 및 면역 결핍 환자의 B형 림프종 등의 질환과 관련된 바이러스로서 [6], 조혈 세포에 감염될 경우 TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  및 interleukin 등을 분비한다고 알려져 있다[7]. 일부 보고에서는 EBV 감염이 흔하지는 않지만 골수이형성 증후군의 원인 될 수 있다고 보고한 바 있다[8].

접 수 : 1997년 9월 26일      접수번호: KJCP1078  
수정본접수 : 1997년 10월 14일  
교 신 저 자 : 이 경 아  
서울시 강남구 도곡동 146-92  
영동세브란스병원 임상병리과  
전화: 02-3497-2779, 3625 Fax : 02-3462-9483

Human parvovirus B19은 골수의 적혈구 전구 세포에 감염되어 적혈구 생성을 억제하므로써 일시적인 골수무형성발증을 유발할 수 있으며, 그외에도 전염성 홍반, 태아수증, 관절염 및 면역 결핍 환자에서 나타나는 만성 빈혈 등의 질환과 관련이 있는 바이러스이다[9]. 드문 경우에 백혈구, 혈소판에도 영향을 줄 수 있는 것으로 알려져 있다[10, 11]. 최근에는 면역 결핍 환자나 구상적혈구증 등의 기존 질환을 가진 환자에서 human parvovirus B19 감염이 골수이형성 증후군과 유사한 골수 소견을 나타냈었다는 증례들이 보고된 바 있다[12, 13].

이에 저자들은 골수이형성 증후군으로 진단 받은 17명의 환자를 대상으로 polymerase chain reaction (PCR)을 이용한 EBV 및 human parvovirus B19-DNA 검출 검사를 시행함으로써 EBV 및 human parvovirus B19 와 같은 바이러스 감염이 골수이형성 증후군의 병인이 될 수 있는지 알아보려고 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

1992년 1월부터 1996년 4월까지 연세 의대 부속 영동 세브란스 병원에 내원하여 골수 검사가 의뢰되었던 환자 중 골수이형성 증후군을 진단 받은 17명의 환자를 대상으로 하였다. 검체로 골수 도말한 슬라이드를 끊어서 DNA 추출에 사용하였다. 환자의 연령은 32-79 (평균 59세)세였으며, 성별은 남자 7명, 여자 10명이었다. 진단명은 refractory anemia (RA) 13명, refractory anemia with excess blast (RAEB) 3명 그리고 refractory anemia with ringed sideroblast (RARS)이 1명이었다.

### 2. 방법

#### 1) DNA 추출

골수 도말한 슬라이드를 끊어서 상용화되어 있는 kit인 Easy-DNA™ (Invitrogen, San Diego, CA, USA)을 사용하여 DNA를 추출하였다.

#### 2) EBV-DNA 검출을 위한 PCR 방법[14]

추출된 2  $\mu$ L의 DNA 용액에 2.5 U Taq polymerase (Perkin-Elmer Cetus, Norwalk, CT), 4종류의 deoxyribonucleic triphosphate 각각 100  $\mu$ mol/L, primer gp-1 (5'-GGCTGGTGTAC-CTGTGTTA-3')과 gp-2 (5'-CCTTAGGAGGAACAAGTC-CC-3') 각각 100 pmol/L, 50 mmol/L KCl, 50 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3), 1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 0.01% gelatin을 혼합하고 증류수를 첨가하여 총량이 20  $\mu$ L되게 하였다. 반응 조건은 DNA Thermal Cycler (Perkin Elmer Cetus, 9600)를 이용하여 94°C에서 30초간 predenaturation, 94°C에서 10초간 denaturation, 45°C에서 10초간 annealing, 72°C에서 10초간의 extension 과정을 35회 반복한 후 마지막으로, 72°C에서 5분간 반응시켰다. 매 검사마다 양성

세포계 (cell line)와 음성 검체에서도 동일한 방법으로 검사하였다. DNA 분석을 위해 증폭된 PCR 산물을 1분간 원침 후 10  $\mu$ L를 취하여 6  $\mu$ L의 loading dye와 혼합한 후 1.5% agarose gel에서 marker와 함께 100 V에서 40분간 전기영동하였다. Ethidium bromide로 염색된 PCR 산물을 ultraviolet light transilluminator로 관찰하고 사진을 찍었다. 결과해석은 증폭산물인 239 bp band가 보이면 양성으로 판독하였다.

### 3) Human parvovirus B19 검출을 위한 PCR 방법[15]

Primer로 K-1 (5'-ATAAATCCATATACTCATT-3')과 K-2 (5'-CTAAAGTATCCTGACCTTG-3')를 각각 100 pmol/L 사용하였으며 나머지 PCR 반응액의 조성은 EBV-PCR과 동일하게 제조하였다. 반응조건은 94°C에서 3분간 predenaturation, 94°C에서 1분간 denaturation, 37°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분간의 extension 과정을 35회 반복한 후 마지막으로, 72°C에서 5분간 반응시켰다. 증폭된 DNA 분석 방법은 EBV-PCR과 동일하다. 결과해석은 증폭산물인 699 bp band가 보이면 양성으로 판독하였다.

## 결 과

17명의 골수이형성 증후군 환자에서 EBV와 human parvovirus B19 PCR 결과가 모두 음성이었다.

## 고 찰

골수이형성 증후군은 비정상적인 간세포 클론의 확장으로 인한 조절 작용 저하, 세포의 분화, 성숙, 증식 등을 조절하는 유전자 결합 및 조절 작용 조절 인자의 형성 장애 등 복합적인 원인에 의해 유발된다[16, 17]. 최근 바이러스 감염이 골수이형성 증후군의 원인 중 하나로서 제시되고 있다[8]. 즉 바이러스에 감염된 대식세포에서 사이토카인이 비정상적으로 분비되어 조절 작용을 억제함으로써 골수이형성증을 유발할 수 있다는 것이다. 특히 EBV 감염시 TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , interleukin-2 등은 증가되며, interleukin-6, GM-CSF 등의 사이토카인은 감소된다는 보고 이후[7, 18] 골수이형성 증후군과 EBV 관련성에 대한 연구가 진행되었으나, 아직은 논란의 여지가 있다. 즉 Kitagawa 등은 in situ hybridization 방법을 사용하여 골수 검체에서 EBV를 검출한 결과 EBV 감염이 골수이형성 증후군의 흔한 원인이 아니라고 보고하였으나[8], Krueger 등은 골수이형성 증후군 환자의 다수에서 EBV 항원 및 항체를 검출함으로써 EBV 감염을 중요시 하고 있다[19]. 본 연구 결과 17명 환자 모두에서 EBV-DNA는 검출되지 않았다. 그러므로 EBV 감염이 골수이형성 증후군의 주된 병인은 아니라고 생각된다.

Human parvovirus B19도 HIV [20], EBV와 함께 골수 이형성 소견을 나타낼 수 있는 바이러스 감염으로 보고된 바 있다. Hasle 등은 범혈구감소증과 면역결핍을 동반한 환자에서 만성 parvo-

virus 감염이 골수이형성 증후군과 유사한 골수 소견을 나타내었다는 증례를 보고하였으며[12], 선천성 구상적혈구증을 가진 환자에서 parvovirus 감염에 의한 일시적인 골수이형성 소견을 보인 증례 등이 보고된 바 있다[13]. 그러나 본 연구에서는 17명 모두에서 human parvovirus B19-DNA는 검출되지 않았다.

위의 결과에서 볼 때 EBV나 human parvovirus B19와 같은 바이러스 감염은 골수이형성 증후군의 주된 병인은 아니라고 생각할 수 있다. 그러나 소아에서 골수이형성 증후군은 드문 질환이므로 소아나 젊은 연령의 환자에서 골수이형성 소견을 보일 경우 바이러스 감염에 의한 일시적인 조혈 작용 억제 상태를 고려해야 할 것이다. 또한 골수에서 많은 대식세포가 관찰되거나 바이러스 감염을 시사하는 소견 즉 human parvovirus B19 감염시 나타나는 거대 전적모구나 붕입체 등이 함께 관찰될 경우에도 바이러스에 대한 검사가 필요하리라 생각된다. 향후 바이러스 감염에 의해 분비되는 다양한 사이토카인이 조혈 작용에 비정상적인 영향을 미칠 수 있다는 사실에 기초하여, 다양한 바이러스 감염과 골수이형성 증후군과의 관련성에 대한 연구가 좀 더 이루어질 필요가 있다.

## 요 약

**배경:** 바이러스 감염은 비정상적인 사이토카인 분비를 통해 골수이형성 증후군을 유발할 수 있을 것으로 생각된다. 본 연구에서는 골수이형성 증후군 환자의 골수 검체에서 EBV와 human parvovirus B19 감염 여부를 살펴봄으로써 이러한 바이러스 감염이 골수이형성 증후군의 병인이 될 수 있는지 알아보려고 하였다.

**방법:** 1992년 1월부터 1996년 4월까지 골수 검사를 시행하여 골수이형성 증후군을 진단받은 17명 환자를 대상으로 하였다. 골수 도말 슬라이드에서 Easy-DNA™를 사용하여 DNA를 추출한 후, EBV는 gp-1, gp-2, human parvovirus B19은 K-1, K-2의 primer를 사용하여 PCR을 시행하고, agarose gel에서 전기영동 시행 후 UV light fluorescence를 관찰하였다.

**결과:** 17명 환자에서 EBV와 human parvovirus B19 PCR 결과는 모두 음성이었다.

**결론:** EBV나 human parvovirus B19 등의 바이러스 감염은 골수이형성 증후군의 주된 병인은 아니라고 생각할 수 있다. 앞으로 다양한 바이러스 감염과 골수이형성 증후군과의 관련성에 대한 연구가 이루어질 필요가 있다.

## 참고문헌

1. Faillie A and Prosch C. Prognostic value of in vitro bone marrow culture in refractory anemia with excess of myeloblasts. *Scand J Haematol* 1987; 20: 286-8.
2. Ohmori M, Ohmori S, Ueda Y, Tohyama K, Yoshida Y, Uchino H. Myelodysplastic syndrome-associated inhibitory activity on haematopoietic progenitor cells. *Br J Haematol* 1990; 74: 179-84.
3. Treacy M, Lai L, Costello C, Clark A. Peripheral blood and bone marrow abnormalities in patients with HIV related disease. *Br J Haematol* 1987; 65: 289-94.
4. Kitagawa M, Lackner AA, Marfeld DJ, Gardner MB, Dandekar S. Simian immunodeficiency virus infection of macaque bone marrow macrophages correlates with disease progression in vivo. *Am J Pathol* 1991; 138: 921-30.
5. Raab TN. Epstein-Barr virus and nasopharyngeal carcinoma. *Semin Cancer Biol* 1992; 3: 297-307.
6. Harrington DS, Weisenburger DD, Purtilo DT. Epstein-Barr virus associated lymphoproliferative lesions. *Clin Lab Med* 1988; 8: 97-118.
7. Wittingham S, Naselli G, Harrison LC, Boyd AW, Cebon J, Jack I. Cytokine production in response to Epstein-Barr virus infection of peripheral blood mononuclear cells in vitro. *Immunol Cell Biol* 1993; 71: 259-64.
8. Kitagawa M, Takano R, Hirokawa K, Kamiyama R. Epstein-Barr virus infection is not frequent in bone marrow from patients with myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 1995; 55: 199-201.
9. Harris JW. Parvovirus for the hematologists. *Am J Hematol* 1992; 39: 119-30.
10. Yoto Y, Kudoh T, Suzuki N. Thrombocytopenia induced by human parvovirus B19 infection. *Eur J Haematol* 1993; 50: 255-7.
11. Pont J, Puchhammer-Stockl E, Chott A. Recurrent granulocytic aplasia as clinical presentation of a persistent parvovirus B19 infection. *Br J Haematol* 1992; 80: 160-5.
12. Hasle H, Kerndrup G, Jacobsen BB, Heegaard ED, Hornsleth A, Lillevang ST. Chronic parvovirus infection mimicking myelodysplastic syndrome in a child with subclinical immunodeficiency. *Am J Pediatr Haematol Oncol* 1994; 16: 329-33.
13. Rinn R, Chow WS, Pinkerton PH. Transient acquired myelodysplasia associated with parvovirus B19 infection in a patient with congenital spherocytosis. *Am J Haematol* 1995; 50: 71-2.
14. Chow KC, Nacilla Q, Witzig TE, Li CY. Is persistent polyclonal B lymphocytosis caused by Epstein-Barr virus? A study with polymerase chain reaction and in situ hybridization. *Am J Hematol* 1992; 41: 270-5.
15. Koch WC, Adler SP. Detection of parvovirus B19 DNA by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 65-9.
16. Jacobs A. Myelodysplastic syndromes: Pathogenesis, functional abnormalities, and clinical implications. *J Clin Pathol* 1985; 38: 1201-17.
17. Kitagawa M, Yoshida S, Kuwata T, Tanizawa T, Kamiyama R. p53 expression in myeloid cells of myelodysplastic syndromes: association with evolution of overt leukemia. *Am J Pathol* 1994; 145: 338-44.
18. Wang SY, Ho CK, Chen LY, Wang RC, Huang MH, Malaspina HC, et al. Down regulation of myelopoiesis by mediators inhibiting the production of macrophage-derived granulomonopoietic enhancing activity. *Blood* 1988; 72: 2001-6.
19. Krueger GR, Kudlimay D, Ramon A, Klueppelberg U, Schumacher K. Demonstration of active and latent Epstein-Barr virus and human herpesvirus-6 infection in bone marrow cells of patient with myelodysplasia and chronic myeloproliferative disease. *In Vivo* 1994; 8: 533-42.
20. Donahue RE, Johnson MM, Zon LI, Clark SC, Groopman JE. Suppression of in vitro haematopoiesis following human immunodeficiency virus. *Nature* 1987; 326: 200-3.