

Interlaboratory CD34 Assay Survey 결과 보고

김문정 · 김현숙* · 박규은 · 김현옥 · 송경순

연세대학교 의과대학 임상병리과학교실, 대한임상병리학회 진단면역분과위원회*

Multicenter Study on Flow Cytometric Enumeration of CD34+ Hematopoietic Stem Cells

Mun Jeong Kim, M.D., Hyon-Suk Kim, M.D.*, Quehn Park, M.D., Hyun Ok Kim, M.D., and Kyung Soon Song, M.D.

Department of Clinical Pathology, Yonsei University College of Medicine, Immunoserology Subcommittee,
The Korean Association of Clinical Pathology*, Seoul, Korea

Background : The increased use of peripheral blood stem cells (PBSC) to reconstitute hematopoiesis needs accurate methods to control the quality. Transplantation centers often rely on CD34+ cell quantitation by flow cytometry to ensure adequacy of hematopoietic progenitor cell collection. Because of variation in interpretation, a lack of interlaboratory proficiency studies, and no generally accepted methodology, comparison of CD34 positive cell data among centers is difficult. To assess the variability of CD34 assay, a multicenter survey involving 4 samples and 14 major laboratories was conducted to compare CD34 positive cell quantitation.

Methods : Fifty-three laboratories were asked to participate and participants were surveyed for their cell processing and staining methods as well as instrumentation, software, and analysis parameters. Four cord blood samples from delivered placenta were shipped by overnight carrier to fourteen participating laboratories for analysis. Total leukocyte count, total mononuclear cell count, CD34 positive cell percentage of leukocytes, absolute CD34 positive cell count were assayed items.

Results : Fourteen laboratories were recruited. Six laboratories used only CD34 monoclonal antibody and five laboratories included one more additional antibody (CD45 or CD14) in their procedure. Two laboratories used a commercial kit (ProCOUNT™). One laboratory analyzed with indirect immunofluorescent assay. Coefficient of variants of CD34 positive cell percentage of leukocytes of each sample were 74.1%, 100.0%, 73.1%, 70.0%, that of absolute CD34 positive cell count were 64.2%, 84.7%, 79.5%, 75.8%, respectively.

Conclusions : We observed an alarming variation among the CD34 positive cell counts reported from different laboratories. An effort to standardize the procedure, reporting policy, quality control as well as to make close communications with physicians and laboratorians should be made for proper management of the patients. (*Korean J Clin Pathol* 1998; 18: 265-70)

Key words : Hematopoietic stem cell, CD34 assay, Interlaboratory CV, Standardization

서론

CD34 항원은 조혈모세포의 세포막에 표현되는 당단백으로서, 세포가 성숙함에 따라 세포막의 CD34 항원은 소멸하게 된다[1-3].

접 수 : 1998년 4월 10일 접수번호: KJCP1149
수정본접수 : 1998년 4월 30일
교신저자 : 박규은
우 135-270 서울특별시 강남구 도곡동 146-92
영동세브란스병원 임상병리과
전화 : 02-3497-3532, Fax : 02-3462-9493

CD34 양성 세포는 정상 골수 세포에서는 1~3%를 차지하지만, 말초혈액에서는 전체 백혈구의 0.01~0.1%로 골수에 비해 극히 적은 양이 존재한다[4-6].

최근 말초혈액 조혈모세포 이식이 보편화되면서 CD34 양성 세포의 측정은 조혈모세포 채집시기를 결정하는데 가장 유용한 예측 지표로 이용되고 있으며[7-11], 골수 생착을 위한 최소한의 CD34 양성 세포 수가 $2\sim 5 \times 10^6/\text{kg}$ 으로 보고됨에 따라 충분한 양의 조혈모세포 채집을 위해 채집 종료 시기를 결정하는데 가장 널리 이용되고 있는 방법이다[12, 13].

CD34 양성 세포의 측정의 단클론항체와 유세포분석기를 이용하여 측정하게 되는데 조혈모세포의 항원을 측정하는 것이기 때문에 특이도가 우수하며, 객관적이며, 빠른 시간에 결과를 얻을 수 있는 장점이 있다. 그러나, 단클론항체의 종류나 사용하는 단클론항체 수에 따라 아직 검사 방법이 표준화된 기준 술식이 정립되어 있지 못하고 전체 세포의 1%이하인 매우 적은 수의 세포를 측정하는 것이므로 기관별 결과에 변이가 크다는 것은 이미 알려진 사실이다. 이런 문제점을 극복하기 위한 일환으로 외국에서는 이미 외부 정도관리를 위한 노력의 일환으로, 1996년도에 International Society of Hematotherapy and Graft Engineering (ISHAGE), North American Multicenter Study와 Nordic Stem Cell Laboratory Group에서는 CD34 양성 세포 측정 지침서를 발표하였다 [14-16]. 국내에서도 말초혈액 조혈모세포 이식술이 시행되는 기관에서는 각 기관별 CD34 양성 세포를 측정하고 있지만 이에 대한 방법의 표준화나 현황에 대한 보고는 아직 없다.

이에 저자들은 대한임상병리학회 진단면역분과와 연세의대 주관으로 설문지 조사 후, 1997년 10월 CD34 양성 세포 측정의 정도관리에 참여를 희망하는 14개 병원을 대상으로 CD34 양성 세포 측정에만 관련 우리나라의 현실을 알아보하고자 interlaboratory CD34 assay survey를 2회에 걸쳐 실시하였기에 그 결과를 분석하고자 한다.

재료 및 방법

1. 참여기관

국내의 3차 진료기관들을 포함하여 CD34 양성 세포 측정 검사를 하리라 생각되는 53 기관을 선별하여, 1차로 CD34 양성 세포 측정의 현황을 파악하기 위한 설문지를 보냈고, 이 중 참여의사를 밝힌 기관들을 대상으로 survey를 실시하였다. 설문지 내용에는 사용 장비와 단클론항체 등 CD34 양성 세포 측정시에 필요한 제반사항을 포함하였다.

2. 방법

정도관리 검체는 정상 산모의 출산 후 반출된 태반으로부터 얻은 제대혈을 143 단위의 sodium heparin이 첨가된 진공관(Becton Dickinson and Company, NJ, USA)에 취하여 1-2 mL씩 분주하였다. 검체는 참가 기관에 2차에 걸쳐서 2 검체씩을 실온에서 24시간 이내에 우송이 완료되게 하였으며, 결과 분석을 위하여 백혈구 수, 단핵구 수, 백혈구당 CD34 양성 세포의 백분율, CD34 양성 세포 수를 보고하도록 하였다.

결 과

1. 참여기관

설문지를 보낸 53 기관 중 13 기관에서 참여 의사를 밝혔으며, 1차로 13 기관에 제대혈 두 검체씩을 발송하였다. 2차 발송시에는 1 기관이 추가로 참여하여 14 기관에 제대혈 두 검체를 발송하였으나 1 기관에는 발송상의 문제로 검체가 접수되지 못하였다.

2. CD34 양성 세포 측정 기관과 측정 방법 현황

설문에 답한 14 기관 중에서 12 기관에서 말초혈액 조혈모세포 이식을 시행하고 있었으며, 1,500 병상 이상 규모의 병원이 3 기관이었으며, 1,000~1,500 병상 규모의 병원이 1 기관, 나머지는 500~1,000 병상 규모의 병원이었다.

말초혈액 조혈모세포의 채집시기를 결정하기 위한 방법으로는 말초혈액의 백혈구 수, 단핵구 수, CD34 양성 세포 수 모두를 이용하고 있는 기관이 가장 많아서 5 기관이었다. 참여한 14 기관 중에 13 기관은 단클론항체와 유세포분석기를 이용하여 CD34 양성 세포를 측정하였으며, 나머지 한 기관은 형광이 결합된 항체를 이용하여 형광현미경으로 CD34 양성 세포를 측정하였다(Table 1). 1차 조사

Table 1. Summary of various instruments and procedural components used for CD34 assay in participating 14 laboratories

Laboratory	Instrument	Software	Cell count (tube)	Fluorescent conjugate	Antibody conc. (μL)	Additional antibodies	Acquired event	
Group I	A	BD FACScan	Lysis II	3×10 ⁶	FITC(BD)	10	No	10,000
	B	BD FACScan	Lysis II	1×10 ⁶	FITC(BD)	20	No	10,000
	C	Coulter Profile	Epics Profile	2×10 ⁶	PE(BD)	8	No	10,000
	D	BD FACScan	Consort 30	2×10 ⁶	FITC(BD)	20	No	10,000
	E	BD FACScan	Lysis II	1×10 ⁶	FITC(BD)	20	No	10,000
	F	BD FACSort	Lysis II	1×10 ⁶	FITC(BD)	20	No	20,000
Group II	G	BD FACScan	Lysis II	1×10 ⁶	PE(BD)	10	CD45	75,000
	H	Coulter Profile	Epics Profile	1×10 ⁶	PE(BD)	10	CD45	10,000
	I	BD FACSort	Lysis II	1×10 ⁷	FITC(BD)	20	CD45	10,000
	J	Coulter Profile	Epics Profile	2×10 ⁶	PE(BD)	20	CD45	20,000
	K	BD FACScaliber	Cell Quest	1×10 ⁶	PE(BD)	20	CD14	50,000
Group III	L	BD FACSort	Lysis II	1×10 ⁶	PE(BD)	20	CD45, nucleic acid dye	50,000
	M	BD FACScan	Lysis II	5×10 ⁶	PE(BD)	20	CD45, nucleic acid dye	60,000
Other	N	Fluorescent microscope		PE(BD)				

시 참여한 기관 중 1 기관은 총단핵구에 대한 CD34 양성 세포의 백분율만을 보고하였기 때문에, 1차 통계에는 포함되지 않았다.

3. CD34 양성 세포 측정시 검체 처리

사용한 유세포분석기와 분석 프로그램은 FACScan (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA, U.S.A.) 과 Lysis II (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA, U.S.A.)을 각각 6 기관, 8 기관에서 사용하고 있었으며, CD34 항체(one color)만을 사용한 기관은 6 기관이 있었고, 이 이외에 CD45 항체나 CD14 항체(two color)를 사용한 기관이 5개 기관, 상품화된 kit (three color)를 사용한 기관이 2 기관 있었다.

측정전 검체 처리는 적혈구를 용혈시켜 제거하는 기관이 10 기관, Ficoll-hypaque 용액으로 단핵구를 분리하는 기관이 3 기관 있었다.

모든 기관이 BD HPCA-2 단클론항체와 isotype control 항체를 사용하였다. CD34 항체는 phecocythrin (PE)이 결합된 항체를 쓰는 기관이 7 기관, fluorescein isothiocyanate (FITC)이 결합된 항체를 쓰는 기관이 6 기관 있었다. 대부분의 경우 사용하는 단클론 항체의 양은 제조자의 지시대로 따랐고, 차단 항체는 특별한 경우에만 사용하는 기관이 4 기관이 있었고, 나머지 기관은 사용하지 않았다.

Viability stain을 시행하는 기관은 5 기관이 있었으나 이를 보고하는 기관은 1 기관이었다. 검체 고정은 7 기관에서 시행하였으며,

이 중 6 기관이 1% formaldehyde 용액을, 1 기관은 2% formaldehyde 용액을 이용하고 있었다.

4. CD34 양성 세포 측정시 gating procedure

각 tube 당 최소 세포 수는 1×10^6 개가 가장 많았으며, 측정된 event 수는 대부분이 10,000~20,000개였다. CD34 항체만을 쓰는 경우에는 forward scatter (FSC)와 side scatter (SSC) 축에서 단핵구만을 선택한 다음 CD34 양성인 세포를 계수하는 기관이 3 기관, 단핵구 선택 단계없이 CD34 양성인 세포를 모두 계수하는 기관이 3 기관이 있었다. CD45 항체를 추가로 이용하는 기관에서는 모두 CD45가 중간 정도 혹은 약하게 양성인 세포군과 CD34가 양성인 세포군의 교집합을 CD34 양성 세포로 보고하고 있었다. CD14 항체를 쓰는 기관에서는 CD14가 약하게 양성이면서 CD34 양성인 세포를 포함하였다. 상품화된 kit인 ProCOUNT™ (Becton Dickinson, Immunocytometry System, San Jose, CA, USA)는 CD34 항체 이외에 핵산 염색 시약을 첨가하여 유허 적혈구의 존재를 배제하였으며, 다른 사항은 CD45 항체를 쓰는 기관과 동일하였다.

5. 각 기관의 CD34 양성 세포의 정도관리검체의 결과 보고 분석

1회와 2회에 각각 2개의 검체를 보낸 결과는 각각 백혈구당 CD34 양성 세포의 백분율과 μL 당 CD34 양성 세포 수로 보고받았다. 전체적인 비교를 위하여 기관에 따라 단핵구당 CD34 양성 세

Table 2. Summary of the reported percentages of CD34 positive cells out of total leukocytes

Laboratory	1st survey		2nd survey	
	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D
A	0.12*	0.89	1.43	1.90
B	0.29	0.47	NT†	NT
C	0.51	0.75	0.42	0.55
D	0.32	0.35	0.52	0.49
E	0.16	0.17	0.28	0.30
F	NT	NT	1.22	1.86
G	0.89	2.11	0.61	1.06
H	0.33	0.33	0.33	0.46
I	0.10	0.01	0.03	0.10
J	0.54	0.49	0.70	1.27
K	0.22	0.38	0.35	0.53
L	0.01	0.22	0.26	0.44
M	0.41	0.39	0.56	0.60
N	NT	NT	0.28	1.22
Mean	0.33	0.50	0.54	0.83
Median	0.31	0.39	0.42	0.55
Range	0.01-0.89	0.01-2.11	0.03-1.43	0.10-1.86
SD	0.24	0.50	0.39	0.58
CV (%)	74.1	100.0	73.1	70.0

* All results are expressed as percentages (%).
† NT: not tested.

Table 3. Summary of the reported total CD34 positive cell count per μL

Laboratory	1st survey		2nd survey	
	Sample A	Sample B	Sample C	Sample D
A	8.7*	117.7	340.5	314.0
B	22.9	66.7	NT†	NT
C	43.0	98.0	100.0	87.0
D	23.5	50.4	138.6	86.1
E	11.0	22.4	26.9	24.0
F	NT	NT	290.0	315.0
G	46.4	219.4	156.7	178.6
H	24.3	43.7	73.0	74.0
I	7.3	1.4	7.4	17.1
J	35.3	63.5	132.5	177.8
K	15.6	48.6	73.5	92.0
L	1.1	25.9	62.0	69.6
M	29.4	53.9	124.0	93.7
N	NT	NT	59.1	113.4
Mean	22.4	67.6	121.9	126.3
Median	23.2	52.1	100.0	92.0
Range	1.1-46.4	1.4-219.4	7.4-340.5	17.1-315.0
SD	14.4	57.3	96.8	95.8
CV (%)	64.2	84.7	79.5	75.8

* All results are expressed as count/ μL .
† NT: not tested.

Table 4. CD34 percentages of CD34 positive cells per leukocytes and total CD34 positive cell count per μL according to methods (mean \pm SD)

	No.		1st survey		2nd survey	
			Sample A	Sample B	Sample C	Sample D
Group I	6	percentage	0.39 \pm 0.33	0.79 \pm 0.80	0.61 \pm 0.53	1.11 \pm 0.65
		total count	24.1 \pm 16.9	93.8 \pm 81.4	139.2 \pm 127.2	160.2 \pm 108.4
Group II	5	percentage	0.29 \pm 0.10	0.32 \pm 0.09	0.41 \pm 0.12	0.48 \pm 0.11
		total count	20.8 \pm 7.3	43.8 \pm 12.5	87.2 \pm 44.8	74.0 \pm 29.0
Group III	2	percentage	0.26 \pm 0.35	0.49 \pm 0.37	0.34 \pm 0.11	0.50 \pm 0.08
		total count	22.0 \pm 29.6	62.0 \pm 51.0	81.0 \pm 26.9	78.3 \pm 12.4

포의 백분율로 보고한 경우에는 백혈구당 CD34 양성 세포의 백분율로 환산하였다. 백혈구당 CD34 양성 세포의 백분율의 변이계수는 각각 74.1%, 100.0%, 73.1%, 70.0%이었고, μL 당 CD34 양성 세포 수의 변이계수는 각각 64.2%, 84.7%, 79.5%, 75.8%이었다 (Table 2, 3).

6. 측정법에 따른 결과 분석

사용한 단클론항체에 따라 CD34 항체만을 사용한 기관을 제1군으로, 이 이외에 CD45 항체나 CD14 항체를 추가로 사용한 기관을 제2군으로, 상품화된 kit를 사용한 기관을 제3군으로 나누었을 때 각 군의 백혈구당 CD34 양성 세포의 평균의 평균은 각각 0.73%, 0.38%, 0.40%로 제2군과 제3군의 평균은 비슷하였고 이에 비하여 제1군에서 가장 높았다(Table 4). 또한 백혈구당 CD34 양성 세포의 변이계수의 평균은 각각 82.9%, 28.9%, 65.6%로 제2군이 가장 낮았다(Table 4).

고 찰

조혈모세포 이식을 위한 충분한 양의 조혈모세포를 채집하기 위해서는 채집 시기나 종료 시기의 결정이 매우 중요하다. 조혈모세포 채집의 적절한 시기는 말초혈액의 백혈구 수, 단핵구 수와 CD34 양성 세포 수 등으로 결정하게 되며, 채집된 조혈모세포 농축액내에 포함된 조혈모세포의 양은 체외세포배양, CD34 양성 세포 측정 방법 등이 널리 쓰이고 있다[12-16].

본 연구에 참여한 14개 기관은 대한 임상검사정도관리협회에 가입된 기관에서만 선정되었기 때문에, 혈액내과 등의 특수검사실에서 CD34 양성 세포를 측정하고 있는 기관은 제외되었을 수 있으며, 본 survey에 참여한 기관은 대학병원이나 3차 진료기관에 국한되었는데, 아마도 유세포분석기같은 고가의 장비를 필요로 하는 검사이기 때문인 것 같다.

1 기관을 제외하고는 13 기관 모두 유세포분석기를 이용하여 단클론항체로 CD34 양성 세포를 측정하였으며, 3 기관은 단핵구를 분리하는 방법을 사용하였고, 나머지 10 기관은 적혈구만을 용해시킨 후 검사를 시행하였다. 검사실마다의 검체의 전처리 과정은 대체적으로 유사하였다.

단클론항체에 결합된 형광은 PE가 FITC에 비해 강한 형광을 내어 약한 형광을 내는 비특이적 세포군과의 구별이 용이하다고 알려져 있으며, 본 조사에서 이 항체를 사용하는 검사실은 14 기관 중 8 기관이었다. 또한 CD34 항체 이외에 비특이적결합을 배제하기 위하여 사용하는 항체로는 CD45 항체나 CD14 항체, 핵산 항체 등이 쓰이고 있었으나 이를 사용하지 않고 CD34 항체만을 사용하는 곳도 6 기관(46%)이나 있었다. 각 검사실에서 항체의 차이 이외에도 gating하는 원칙에서 차이도 있을 것으로 생각되었지만 사용하는 항체에 따라 동일하였다. 즉, CD34 항체만을 사용하는 기관에서는 SCC측에서 단핵구이면서 CD34가 양성인 세포를 선택하였고, CD45 항체나 CD14 항체를 사용했을 때는 SSC측에서 단핵구이면서 CD45나 CD14가 약하게 또는 중중도 양성인 CD34가 양성인 세포를 선택하였다.

4개 검체의 변이계수는 모두 100%이하로 외국의 136%보다는 낮은 수치였지만, 검사 결과가 환자의 치료에 막대한 영향을 미칠 수 있다는 점을 감안할 때 이는 만족할 만한 결과는 아니었다[14]. 1차 B검체의 경우 μL 당 CD34 양성 세포의 수가 가장 낮게 측정된 검사실에서는 1.4로, 가장 높게 측정된 검사실에서는 219.4로, 150배 이상의 차이가 관찰되었으며, 결과치의 범위가 가장 적었던 2차 B 검체의 경우도 가장 낮게 측정된 검사실과 가장 높게 측정된 검사실의 차이가 20배 정도였다(Table 3).

CD34 양성 세포의 백분율은 평균 0.59%, 총 CD34 양성 세포는 μL 당 43.5개로 김 등[17]이 보고한 0.21%, 24.6개에 비해 높은 결과로서, 이는 1개의 항체를 사용하는 군이 포함되어 있기 때문으로 생각되었다. 사용한 항체에 따라 나는 경우 각 군에서의 평균을 살펴보면, 대체적으로 CD34 항체만을 사용한 1군의 결과가 가장 높았고, 2군과 3군은 비슷하였다. 이들의 표준편차는 역시 2군과 3군이 1군에 비해 우수하였다(Table 4). 비록 검체의 수가 4 검체밖에 안되고, 참여 기관수도 14 기관으로 적었기 때문에 단정적으로 말할 수는 없지만, CD34 양성 세포 측정시 정확한 조혈모세포의 선택과 재현성의 향상을 위해 CD34 항체 이외에 다른 항체를 추가로 쓰는 것이 좋을 것으로 생각되었다.

대부분의 검사실에서 4 검체의 결과들이 비슷한 분포를 하고 있었다. 즉, 다른 검사실에 비하여 높게 측정하는 검사실에서는 4 검체의 결과가 모두 높게 측정되었으며, 낮게 측정하는 검사실에서는 4 검체의 결과가 모두 낮은 경향을 보이고 있었다.

말초혈액 조혈모세포 이식이나 골수이식시 골수 생착에 필요한

최소한의 CD34 양성 세포 수는 보고자에 따라 약간씩 다르지만, $2 \sim 5 \times 10^6/\text{kg}$ 로 알려져 있고, 대부분의 검사실과 임상에서 이를 기준으로 환자 진료를 시행하게 된다. 각 기관이 정확한 CD34 양성 세포의 측정으로 골수 생착에 필요한 최소량을 정확히 측정하고 채집하는 것이 이상적이겠지만, 각 검사실에서의 CD34 양성 세포의 측정치에 변이가 있음을 알고 고정된 일정 수치보다는 각 기관에 맞는 기준을 융통성있게 결정하는 것이 현명하리라 생각되었다. 이를 위해서는 임상과의 검사 전문의와의 의사소통이 필수적이라 하겠다.

검사실에서 위양성인 세포를 많이 계수하여 CD34 양성 세포 수를 실제보다 높게 측정했을 경우 채집된 조혈모세포 농축액에 골수 생착에 필요한 조혈모세포가 충분히 포함되어 있지 않아 골수 생착에 실패할 수 있으며, 이와는 반대로 너무 순수한 세포만을 계수하여 과도한 가동화를 유도하면 암세포의 오염의 가능성을 증가시킬 수도 있다. 즉 조혈모세포의 수를 정확히 측정하지 못할 경우 가장 최적의 조혈모세포채집 시작시기를 놓칠 수 있다. 자가조혈모세포이식 대부분의 경우 조혈성장인자로 전처치를 하기 때문에 이로 인한 손실 또한 크며, 동종이식의 경우 환자는 고용량화학요법으로 골수의 정상 조혈세포가 파괴된 상태이기 때문에 이의 실패는 환자에게 심각한 결과를 초래하게 된다. 그러므로 정확한 CD34 양성 세포의 측정이 조혈모세포이식의 성패에 매우 중요하다고 생각된다.

외국에서도 CD34 양성 세포 측정의 정도관리를 위한 노력이 이루어지고 있다[14-16]. International Society of Hematotherapy and Graft Engineering (ISHAGE), North America Multicenter Study와 Nordic Stem Cell Laboratory Group에서 추천한 CD34 양성 세포의 측정의 지침서에 따르면, 정확한 CD34 양성 세포의 측정을 위해서는 검체를 받은 지 4시간 이내에 검체 처리를 시작하여야 하며, 단핵구를 분리하는 방법보다는 적혈구 용해법을 권장하고 있다. 측정시의 세포의 수는 $0.5 \sim 1 \times 10^6$ 개를, 이용하는 항체는 HPCA-2PE (Beckton Dickinson, Immunocytometry System, San Jose, CA, USA)와 CD45 항체 사용을 권장하고 있으며, 2번의 검사를 동시에 시행해서 각각의 측정값이 평균의 10% 이내이어야 그 검사의 결과를 신뢰할 수 있다고 하였다. 매우 적은 수의 세포를 측정(rare event analysis)하는 것이기 때문에 적어도 50,000개 내지 75,000개 이상의 백혈구를 또는 100개 이상의 CD34 양성 세포를 유세포분석기를 이용하여 측정하여야만 하며, 이는 CD34 양성 세포 측정시 매우 중요한 점으로 지적하고 있었다. Gating에 있어서도 1단계로 CD45가 양성인 세포를 전체 백혈구로 계산하고, 2단계로 1단계의 세포 중 CD34가 양성인 세포를 구한다. 3단계로 2단계에서 구획된 세포 중 SCC에서 약양성 혹은 중중도 양성인 세포를 찾고, 4단계로 이 세포들이 FSC와 SCC에서 단핵구 구역에 위치하는지를 확인한다. 보고 형식도 환자의 체중에 대한 CD34 양성 세포수로 보고하는 것이 권장되었는데 국내의 많은 검사실에서 이와 같은 보고 형식을 이용하고 있었으며, 이는 임상과의 결과를 이해하기에 용이하리라 생각되었다.

현재 우리나라에서는 많은 기관에서 조혈모세포이식을 시행하고

있으며 성공적이고 효율적인 조혈모세포이식을 위해 검사실에서는 신속하고 정확한 CD34 양성 세포의 측정이 반드시 필요하다[18-20]. 더군다나 CD34 양성 세포 측정 자체가 전체 세포의 1% 이하인 매우 적은 수의 세포를 측정하는 검사이기 때문에 검사실마다의 변이가 예상되었는데, 본 조사 결과 그 수치가 검사실간의 변이가 너무 커서 많은 문제가 있을 것으로 생각되었다. 즉, CD34 양성 세포 수를 기준으로 말초혈액 조혈모세포 채집액을 평가할 때 이를 꼭 감안하여야 하며, 검사 자체의 중요성을 생각했을 때 CD34 양성 세포 측정의 표준화는 시급하고 반드시 필요하다고 생각되었다. 표준화전까지만이라도 현실적으로 위의 권장사항을 모두 지키기는 어렵더라도 기본적인 사항은 가능한 따르려고 노력하려는 자세가 필요하다고 생각된다.

요 약

배경: 골수 재건에 필요한 조혈모세포의 정확한 측정은 말초혈액 조혈모세포 이식시 가장 중요한 인자로 알려져 있다. 대부분의 검사실에서는 현재 단클론항체와 유세포분석기를 이용하여 CD34 양성 세포를 측정하고 있다. 그러나 CD34의 측정은 표준화된 술식이 없어 기관간 변이가 클 것으로 생각되었다. 이에 저자들은 CD34 양성 세포 측정 현황을 파악하고자 14 기관을 대상으로 4 검체의 채대혈을 이용하여 기관별 각 기관의 결과를 분석하였다.

방법: 전국 53 기관에 CD34 양성 세포 측정의 현황을 파악하기 위한 설문지를 보냈고, 이 중 참여의사를 밝힌 기관들에 대해 본 survey를 실시하였다. 설문지 내용에는 사용장비와 단클론항체 등 CD34 세포표지자 측정시에 필요한 채반사항을 포함하였다. 2차에 걸쳐서 각각 채대혈 2 검체씩을 우송하여 survey를 실시하였고, 결과 분석은 총백혈구 수, 단핵구 수, CD34 양성 세포의 백분율, 총 CD34 양성 세포 수로 하였다.

결과: 총 14기관이 참여하였으며, 1차와 2차에 각각 13 기관이 참여하였다. CD34 세포표지자 측정에 사용된 단클론 항체는 6 기관은 CD34 항체 1가지를 사용하였으며, 5 기관은 이외에 CD45 항체나 CD14 항체를 같이 사용하였으며, 2 기관은 상용화된 kit (ProCOUNT™, Becton Dickinson, USA)를 사용하였고, 1 기관은 현미경을 이용한 간접면역형광법을 사용하였다. 각 검체의 총 백혈구당 CD34 양성 세포의 백분율의 변이계수는 74.1%, 100.0%, 73.1%, 70.0%이었다. 또, μL 당 총CD34 양성 세포 수의 변이계수는 각각 64.2%, 84.7%, 79.5%, 75.8%이었다.

결론: 전국에서 CD34 세포표지자를 측정하고 있는 기관은 규모가 큰 3차 진료기관임에도 불구하고 4 검체의 변이계수는 크게는 100.0%까지 관찰되었다. 양성세포 측정에 사용되는 단클론항체와 기기는 각 검사실마다 다르지만, CD34 양성 세포 수가 말초혈액 조혈모세포 채집술의 적당한 채집시기를 결정하는데 뿐 만이 아니라 채집된 조혈모세포의 골수생착 가능성을 예측하는 지표로 사용되고 있는 현실에서 CD34 세포표지자 측정의 표준화가 시급하다 하겠다.

감 사

본 survey에 적극 참여하신 다음 기관(가나다순)의 임상병리과 과장님들과 실무진 여러분께 감사드립니다.

가톨릭의대 성모병원
 경북대학교병원
 고려대학교 구로병원
 고려대학교 안암병원
 동아대학교병원
 부산대학교병원
 서울대학교병원
 성균관의대 삼성의료원
 연세대학교의료원
 연세의대 영동세브란스병원
 울산의대 서울중앙병원
 이화여자대학교 동대문병원
 인하대학교병원
 전남대학교병원

참고문헌

1. Terstappen LW, Huang S, Safford M, Lansdorp PM, Loken MR. Sequential generations of hematopoietic colonies derived from single nonlineage-committed CD34+CD38- progenitor cells. *Blood* 1991; 77: 1218-27.
2. Simmons DL, Satterthwaite AB, Tenen DG, Seed B. Molecular cloning of a cDNA encoding CD34, a sialomucin of human hematopoietic stem cells. *J Immunol* 1992; 148: 267-71.
3. Foucar K, ed. *Bone marrow pathology*. 1st ed. Chicago: ASCP Press, 1995: 2-4.
4. Sutherland DR and Keating A. The CD34 antigen: structure, biology and potential clinical applications. *J Hematother* 1992; 1: 115-29.
5. Bender JG, Unverzagt KL, Walker DE, Lee W, Van Epps DE, Smith DH, et al. Identification and comparison of CD34 positive cells and their subpopulations from normal peripheral blood and bone marrow using multicolor flow cytometry. *Blood* 1991; 77: 2591-6.
6. Civin CI, Banquerigo ML, Strauss LC, Loken MR. Antigenic analysis of hematopoiesis. VI. Flow cytometric characterization of My-10- positive progenitor cells in normal human bone marrow. *Exp Hematol* 1987; 15: 10-7.
7. Schwella N, Siegert W, Beyer J, Rick O, Zingsem J, Eckstein R, et al. Autografting with blood progenitor cells: predictive value of preapheresis blood cell counts on progenitor cell harvest and correlation of the reinfused cell dose with hematopoietic reconstitution. *Ann Hematol* 1995; 71: 227-34.
8. Mohle R, Murea S, Pforsich M, Witt B, Haas R. Estimation of the progenitor cell yield in a leukapheresis product by previous measurement of CD34+ cells in the peripheral blood. *Vox Sang* 1996; 71: 90-6.
9. Remes K, Matinlauri I, Grenman S, Itala M, Kauppila M, Pelliniemi TT, et al. Daily measurements of blood CD34+ cells after stem cell mobilization predict stem cell yield and posttransplant hematopoietic recovery. *J Hematother* 1997; 6: 13-9.
10. Schots R, Riet IV, Damiaens S, Flament J, Lacor P, Staelens Y, et al. The absolute number of circulating CD34+ cells predicts the number of hematopoietic stem cells that can be collected by apheresis. *Bone Marrow Transplant* 1996; 17: 509-15.
11. Zimmerman TM, Lee WJ, Bender JG, Mick R, Williams SF. Quantitative CD34 analysis may be used to guide peripheral blood stem cell harvests. *Bone Marrow Transplant* 1995; 9: 439-44.
12. Bensinger W, Singer J, Appelbaum F, Lilleby K, Longin K, Rowley S, et al. Autologous transplantation with peripheral blood mononuclear cells collected after administration of recombinant granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1993; 81: 3158-63.
13. Bender JG, To LB, Williams S, Schwartzberg. Defining a therapeutic dose of peripheral blood stem cells. *J Hematother* 1992; 1: 329-41.
14. Brecher ME, Sims L, Schmitz J, Shea T, Bentley SA. North American multicenter study on flow cytometric enumeration of CD34+ hematopoietic stem cell. *J Hematother* 1996; 5: 227-36.
15. Sutherland DR, Anderson L, Keeney M, Nayar R, Chin-Yee I. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. *J Hematother* 1996; 5: 213-26.
16. Johnsen HE and Knudsen LM. Nordic flow cytometry standards for CD34+ cell enumeration in blood and leukapheresis products: report from the second Nordic workshop. *J Hematother* 1996; 5: 237-45.
17. 김수정, 양운선, 김선희, 김대원. 유세포분석에 의한 제대혈의 CD34 양성 조혈모세포 산출. *대한임상병리학회지* 1997; 17: 821-9.
18. 김현수, 구성현, 최소연, 조요한, 지석배, 박준성 등. 다양한 악성 종양에서의 말초혈액 조혈모세포 이식을 통한 고용량 항암치료. *대한조혈모세포이식학회지* 1996; 1: 125-32.
19. 김희제, 민창기, 엄현석, 최정현, 김동욱, 이종욱 등. 다발성 골수종에서 말초혈액 자가조혈모세포이식. *대한조혈모세포이식학회지* 1997; 2: 17-24.
20. 민유홍, 남정현, 정소영, 이석, 이승태, 이정운 등. 급성 백혈병환자에서 말초혈액 조혈모세포 수집을 위한 대용량 백혈구분반술. *대한혈액학회지* 1995; 30: 267-8.