

말초 조혈모세포 채집을 위한 대용량 백혈구분반술

— 두 혈액성분 채집기의 비교 —

연세대학교 의과대학 임상병리과학교실¹, 내과학교실²

남정현¹ · 임환섭¹ · 조성란¹ · 김현옥¹ · 권오현¹ · 민유홍²

= Abstract =

Large-Volume Leukapheresis for Collection of Peripheral Blood Stem Cells

- A Comparison of Two Continuous Flow Cell Separators -

Chung Hyun Nahm, M.D.¹, Hwan Sup Lim, M.D.¹, Sung Ran Cho, M.D.¹
Hyun Ok Kim, M.D.¹, Oh Hun Kwon, M.D.¹ and Yoo Hong Min, M.D.²

*Department of Clinical Pathology¹, Internal Medicine²
Yonsei University Medical College, Seoul, Korea*

Background : Mobilized peripheral blood stem cells(PBSCs) are now used increasingly in patients with hematologic and solid tumors to reconstitute hematopoiesis after dose-intensive chemotherapy. We evaluated the efficacy of large-volume leukapheresis(LVL) and compared the ability of Fenwal CS3000 Plus and Cobe Spectra to collect mononuclear cells(MNCs) for PBSCT.

Methods : Twenty liters of whole blood per LVL were processed in 22 patients with acute leukemia and lymphoma. LVL were performed in rapid recovery phase (white cells $>3 \times 10^9/L$, or CD34 $^+$ cells $>1\%$ of white cells) after chemotherapy followed by granulocyte-colony stimulating factor. The end point of LVL was mononuclear cells (MNCs) $>8 \times 10^8/kg$, or CD34 $^+$ cells $>6 \times 10^6/kg$. A-35 collection chamber was used in Fenwal CS3000 Plus and whole blood flow was set at 85mL/min, whole blood to anticoagulant ratio 11~13:1, interface offset 150. MNC procedure was used in Cobe Spectra, whole blood flow was 90~100mL/min, whole blood to anticoagulant ratio 24:1 with heparin to anticoagulant and product bags, collection rate 1mL/min, and hematocrit 2~3%.

Results : Total 53 LVL(35 with Fenwal CS3000 Plus and 18 with Cobe Spectra) were performed on 22 patients. An average of 2.4 LVL per patient(range 1~4) were performed. With Fenwal CS3000 Plus, post-LVL values of hematocrit, platelets and MNCs were reduced by 12.4%, 53.1%, and 33.0% and with Cobe Spectra, 9.2%, 36.1%, and 39.6%, respectively.

본 연구는 1995년도 연세대학교 의과대학 일반과제연구비(승인번호 95-58)로 이루어졌다.

남정현 : 400-711, 인천광역시 중구 신흥동 3가 7-206 인하대병원 임상병리과

Tel : (032)890-2504 Fax : (032)89-2529

Mean collection volume of Fenwal CS3000 Plus and Cobe Spectra were 135.7mL and 175.2mL per LVL, respectively. There was no statistical significant difference in the yields of LVL between Fenwal CS3000 Plus($3.4 \pm 1.9 \times 10^8$ /kg MNCs, $7.2 \pm 11.2 \times 10^6$ /kg CD34⁺ cells) and Spectra($4.7 \pm 2.1 \times 10^8$ /kg MNCs, $7.4 \pm 9.6 \times 10^6$ /kg CD34⁺ cells). The yields of LVL were correlated well with patients' pre-MNC counts in both cell separators. Mean percentages of MNC were 95.4% with Fenwal CS3000 Plus and 74.0% with Cobe Spectra ($P < 0.001$) and collection efficiencies were $53.6 \pm 18.8\%$ and $57.3 \pm 27.8\%$, respectively ($P > 0.05$). LVL product with Cobe Spectra contained less red cells(10.5 ± 2.7 mL) than Fenwal CS3000 Plus(34.1 ± 10.8 mL) ($P < 0.001$). Platelet contamination was not different for Fenwal CS3000 Plus($2.3 \pm 2.1 \times 10^{11}$) and Cobe Spectra($3.1 \pm 1.0 \times 10^{11}$).

Conclusion : LVL could be conveniently used for PBSC collection with good collection efficiency and safety without serious citrate toxicities. LVL products with Fenwal CS3000 Plus showed less collection volume and granulocyte contamination. The products with Cobe Spectra showed less red cell contamination and less decrease in patients' platelet counts.

Key Words : Large-volume leukapheresis, Peripheral blood stem cells, Fenwal CS3000 Plus, Cobe Spectra

서 론

말초 조혈모세포이식(peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT)은 1970년대 말 만성 골수성 백혈병 환자에게 처음 시도되었으며¹⁾, 성공적인 PBSCT가 1986년에 보고되면서 혈액 종양환자와 골수에 전이된 유방암 환자에서의 성공사례가 다수 보고되고 있다^{2~6)}. PBSCT는 기존의 골수이식에 비하여 이식후의 회복이 빨라 혈구감소기의 사망률을 줄일 수 있고, 종양세포 오염률이 적어 재발의 위험성이 낮으며, 전신마취의 필요가 없을 뿐 아니라 자가 말초 조혈모세포이식을 시행하는 경우에는 이식편대숙주반응의 위험성도 배제할 수 있어 그 이용률은 계속 증가될 전망이다^{7~11)}. 정상적인 말초혈액에는 조혈모세포가 거의 존재하지 않으나 화학요법과 과립구 성장촉진인자 투여로 골수로부터 가동화시키면 말초혈액에서 혈액성분 채집기를 이용하여 비교적 쉽게 채집할 수 있다^{12~16)}. 그러나 환자마다 가동화에 따른 반응이 일정치 않고 그 기

간이 짧아, 일부 환자에서는 충분한 량을 채집하는데 시일이 많이 걸리고¹⁵⁾, 적혈구나 과립구 혼입이 많으면 동결 및 해동과정에서 용혈과 과립구 파괴로 인하여 환자에게 이식시 호흡기 및 신기능장애가 유발될 수 있다^{12, 17)}. 따라서 말초 조혈모세포(peripheral blood stem cell, PBSC)의 채집시기와 성분혈액 분리기를 선정함에 있어 신중한 검토가 있어야 한다.

국내에서 말초 조혈모세포 채집을 위하여 가장 많이 이용되고 있는 기기는 Fenwal CS3000 Plus와 Cobe Spectra이다. 그러나 최근까지 보고된 국내의 문헌들은 성분혈액 분리기의 채집과정에 대한 자세한 과정보다는 PBSCT의 전반적인 과정에 대한 고찰에 집중되어 있다^{18~20)}. 이에 본 연구에서는 주로 혈액종양 환자를 대상으로 항암요법후 Fenwal CS3000 Plus와 Cobe Spectra를 이용하여 말초 조혈모세포를 채집하기 위하여 1회당 20-30L 이상의 혈액을 처리하는 대용량 백혈구 분반술을 시행한 경험을 분석함으로써 각 기기에 따른 시술 전, 후의 환자의 혈액성분 변화를 측정하여 필요한

말초 조혈모세포 채집을 위한 대용량 백혈구분반술

경우 조치를 취할 수 있는 기반을 마련하고 적은 횟수로도 충분한 양의 말초 조혈모세포를 공급할 수 있었던 경험을 소개하고자 한다. 또 백혈구분반술시 적혈구와 혈소판 혼입정도를 계산하고 기기의 효율성을 평가하여 두 혈액성분 채집기의 술식을 정립하고 장, 단점을 비교하여 앞으로 PBSCT를 시행하고자 하는 기관에서의 성분채집기 선택에 도움을 주고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1995년 7월부터 항암요법 및 PBSC 채집을 위하여 입원한 혈액 및 고형 종양환자 22명을 대상으로 혈액성분 분리기 Fenwal CS3000 Plus(Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, IL, USA)와 Cobe Spectra(Cobe BCT, Lackewood, CO, USA)를 이용하여 백혈구분반술을 시행하였다. 모든 환자는 항암요법으로 완전관해 상태에 이른 후 G-CSF(Filgrastim, Kirin, Japan)를 1일 $5\text{ }\mu\text{g}/\text{kg}$ 씩 투여하였다. 매일 환자의 혈구수와 CD34⁺ 세포의 비율을 측정하여 백혈구수가 $3 \times 10^9/\text{L}$ 이상이거나 CD34⁺ 세포가 총백혈구의 1% 이상인 상태에서 백혈구분반술 실시 직전에 이중관 카테터(Mahurkar Catheter, Quinton Instrument Company, Seattle, USA)를 삽관하고, 단핵구 $8 \times 10^6/\text{kg}$ 이상, 또는 CD34⁺ 세포 $6 \times 10^6/\text{kg}$ 이상 채집될 때까지 매일 백혈구분반술을 실시하였다. 1회 전혈시술량은 20L였으며, 환자의 혈액량(one blood volume)이 처리될 때마다 염화칼슘을 0.3mg씩 정맥주사하였다(Table 1).

2. 방법

1) 대용량 백혈구분반술 - Fenwal CS3000 Plus

제 1 변형방법(modified procedure #1)에 따라, 과립구 분리방(granulocyte separation chamber)과 A-35 수집방(collection chamber)를 장착하여 시행하였다. 혈류는 기계의 최고속도인 85mL/분으로,

전혈과 항응고제의 비율은 11~13:1로, interphase offset detector는 150으로 설정하였다²¹⁾.

2) 대용량 백혈구분반술 - Cobe Spectra

단핵구 수집방법(MNC collection procedure)에 따라 실시하였다²²⁾. 전혈과 항응고제의 비율을 24:1로 설정하고 항응고제 500mL당 헤파린 3,000단위씩 첨가하고, 채집백에는 헤파린 1,000단위를 첨가하였다. 혈류속도는 90~100mL/분, 수집속도는 1mL/분으로 설정하였으며, 헤마토크리트는 2~4%가 되도록 육안으로 확인하여 수동조절하면서 채집하였다²³⁾.

3) 백혈구분반술에 따른 혈구수 변화

백혈구분반술 실시 전과 후에 환자의 EDTA 전혈을 채혈하여 혈구수변화(혈색소, 백혈구 및 혈소판 감소정도)를 측정하였다.

4) 채집된 세포수 계산 및 CD34 측정

백혈구분반술 완료후 각 채집백에서 1mL씩 무균적으로 EDTA 채혈관에 채취하여 자동혈구분석기(Technicon H-3, Miles Incorp, Tarry Town, NY, USA)로 혈구수를 측정하여 적혈구와 혈소판 혼입수를 계산하였다. 백혈구수는 수기법으로 측정하고 도말표본을 Wright 염색하여 단핵구비율을 계산하였다. 또 채집된 단핵구 중 10^6 개의 세포를 CD34-FITC(Beckton Dickinson, Mountainview, CA, USA)와 반응시킨 후, FACSCAN(Beckton Dickinson, USA)으로 분석하여 CD34⁺ 세포의 비율을 측정하였다.

백혈구분반술의 단핵구 채집효율(collection efficiency)은 다음 공식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Collection Efficiency} = \frac{\frac{\text{MNC}^a \times \text{product}}{\text{volume(mL)}} \times 100}{(\text{preMNC}^b + \text{postMNC}^c)/2} \times \text{processing volume(mL)}$$

a, mononuclear cell count in product(/mL)

b, precollection mononuclear cell count in patient(/mL)

c, postcollection mononuclear cell count in patient(/mL)

Table 1. Clinical Characteristics of the Patients

No.	Sex/Age(yr)	Diagnosis	Chemotherapy	Cytokine	No. of LVL	MNC/kg ($\times 10^8$)	CD34+/kg ($\times 10^6$)
1	M/35	AML(M2)	ID AraC/Ida	G-CSF	2	7.7	16.2
2	F/35	AML(M2)	ID AraC/Ida	G-CSF	3	9.7	0.37
3	M/16	AML(M3)	MEC	G-CSF	1	4.4	16.6
4	M/25	AML(M4)	MEC	G-CSF	3	10.2	5.7
5	M/30	AML(M4)	MEC	G-CSF	3	6.8	1.6
6	M/34	AML(M4)	LD AraC/Mito	G-CSF	2	12.4	16.8
7	M/52	AML(M4)	MEC	G-CSF	3	8.9	8.8
8	M/57	AML(M4)	TAD	G-CSF	2	13.7	24.3
9	F/16	AML(M4)	MEC	G-CSF	2	14.4	28.1
10	F/22	AML(M4)	LD AraC/Mito	G-CSF	2	12.0	13.3
11	F/16	AML(M5)	MEC	G-CSF	2	7.8	12.6
12	M/18	ALL(L1)	MEC	G-CSF	2	21.5	129.1
13	M/21	ALL(L2)	ID AraC/Ida	G-CSF	3	8.6	7.8
14	M/31	ALL(L2)	HD AraC/Amsa	G-CSF	3	8.2	9.4
15	M/47	ALL(L2)	ID AraC/Ida	G-CSF	3	7.8	99.9
16	F/16	ALL(L2)	ID AraC/Ida	G-CSF	4	8.9	7.4
17	F/32	ALL(L2)	MEC	G-CSF	2	17.4	93.2
18	M/53	Lymphoma	—	G-CSF	2	6.1	0.63
19	F/32	Lymphoma	CHOP	G-CSF	2	7.5	29.4
20	M/50	Melanoma	—	G-CSF	2	8.4	7.2
21	M/73	Renal cell ca	—	G-CSF	3	8.3	7.9
22	F/56	Stomach ca	—	G-CSF	2	4.8	5.9

Abbreviations; LVL : large-volume leukapheresis; AML : acute myeloid leukemia; ALL : acute lymphoblastic leukemia; MEC : mitoxantrone, VP-16, intermediate-dose cytosine arabinoside; ID AraC : intermediate-dose cytosine arabinoside; Ida : idarubicin; Mito : mitoxantrone; LD AraC : low-dose cytosine arabinoside; TAD : 6-TG, cytosine arabinoside, daunorubicin; HD AraC : high-dose cytosine arabinoside; Amsa : amsacrine; CHOP : cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone; G-CSF : granulocyte-colony stimulating factor

결 과

1. 대용량 백혈구분반술

22명의 환자에서 총 53회의 분반술이 시행되었으며, 이중 35회는 Fenwal CS3000 Plus로 18회는 Cobe Spectra로 시행되었다(Table 1). 환자당 평균 시술횟수는 2.4회였다. 채집술 도중 환자들에게 심각한 저칼슘증세는 관찰되지 않았다.

2. 백혈구분반술후의 혈구수 변화

Fenwal CS3000 Plus로 백혈구분반술을 시행한

군에서는 1회당 헤마토크리트 12.4%, 혈소판 53.1%가 감소하였고, Cobe Spectra의 경우 각각 9.2%, 36.1%가 감소하여, 혈소판의 경우 유의한 차이를 보였다($P<0.05$). 단핵구는 각각 33.0%, 39.6%가 감소하였고, CD34⁺ 세포의 비율은 각각 14.5%, 14.7%가 감소하였다($P>0.05$)(Table 2).

3. 채집된 세포수 계산 및 면역표지자 검사

Fenwal CS3000 Plus와 Cobe Spectra의 1회 평균 채집용량은 각각 135.7 ± 28.8 mL, 175.2 ± 30.0 mL이었고($P<0.05$), 걸린 시간은 각각 252 ± 18 , 229 ± 12 분이었다. 백혈구분반술 1회당 단핵구

Table 2. Hematologic Cell Counts Before and After the Leukapheresis in Two Cont Separators

	Fenwal CS3000 Plus			Cobe Spectra		
	Before	After	% Change	Before	After	% Change
Hematocrit(%)	30.1±3.3	26.4±2.9	12.4	30.8±2.4	29.4±3.8	9.2
Platelets($\times 10^9/L$) [*]	93±77	42±35	53.1	77±16	54±12	36.1
MNCs($\times 10^9/L$)	2.3±1.6	1.5±0.8	33.0	3.2±2.0	2.1±1.4	39.6
CD34(%)	2.1±3.5	1.7±2.9	14.5	7.4±0.7	5.4±4.7	14.7

^{*} P<0.05, mean±SD

Table 3. Yields of Large-Volume Leukaphere with Fenwal CS3000 Plus and Spectra

	Fenwal CS3000 Plus	Cobe Spectra
Collection volume/LVL(mL) [*]	135.7±28.8	175.2±30.0
Duration/LVL(min)	252±18	229±12
MNC(%) [†]	95.4±7.3	74.0±22.4
MNCs/LVL($\times 10^8/kg$)	3.4±1.6	4.7±2.1
CD34 ⁺ cells(%)	1.9±3.2	2.1±2.5
CD34 ⁺ cells/LVL ($\times 10^6/kg$)	6.8±1.1	4.2±2.0
RBC/LVL(mL) [†]	34.1±10.8	10.5±2.7
Platelets/LVL($\times 10^{11}$)	2.3±2.1	3.1±3.2
MNC efficiency(%)	53.6±18.8	57.3±27.8

^{*}: P<0.05, [†] P<0.001, mean±SD

가 각각 $2.0\pm1.1\times 10^{10}$, $3.1\pm1.8\times 10^{10}$ 개씩 채집되었고, 체중에 따른 단핵구는 각각 $3.4\pm1.9\times 10^8/kg$, $4.7\pm2.1\times 10^8/kg$, 그리고 CD34 양성세포는 $7.2\pm11.2\times 10^6/kg$, $7.4\pm9.6\times 10^6/kg$ 개가 채집되었다. 채집된 백혈구 중 단핵구의 비율은 각각 $95.4\pm7.3\%$, $74.0\pm22.4\%$ 였고($P<0.001$), CD34⁺ 세포의 비율은 각각 $1.9\pm3.2\%$, $2.1\pm2.5\%$ 였다. 두 기기의 단핵구 채집효율은 $53.6\pm18.8\%$, $57.3\pm27.8\%$ 였다($P>0.05$).

백혈구분반술 1회당 적혈구는 Fenwal CS3000 Plus에서 34.1mL, Cobe Spectra에서 10.5mL가 혼입되었고($P<0.001$), 혈소판은 각각 $2.3\pm2.1\times 10^{11}$, $3.1\pm3.2\times 10^{11}$ 개가 혼입되었다(Table 3).

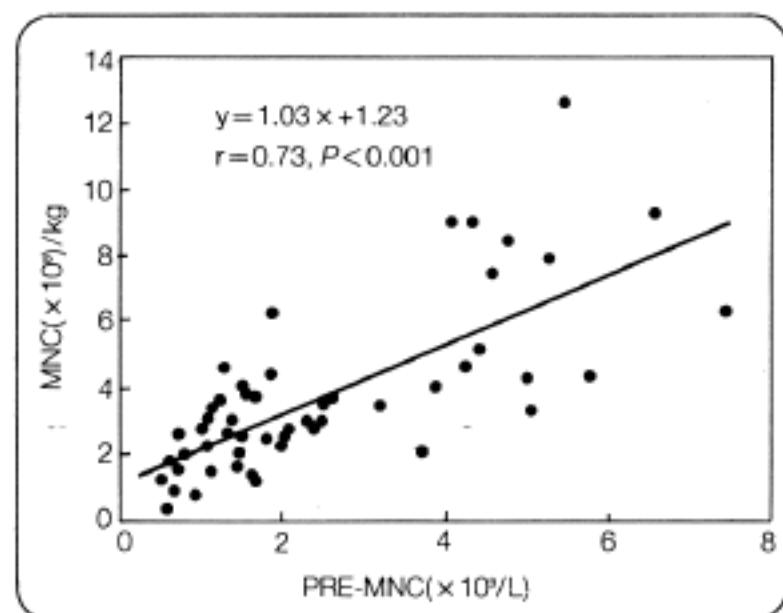


Fig. 1. Correlations between pre-mononuclear cell counts and yields of large-volume leukapheresis.

고 찰

PBSCT는 기존의 골수이식에 비하여 이식후 혈구수의 회복이 빠르고, 종양세포 오염률이 적으며, 전신마취가 필요없고 혈액성분 분리기를 사용하여 비교적 쉽게 채집할 수 있다^{7~11}. 최근에는 악성종양의 완치를 위한 대용량 화학요법 (high-dose chemotherapy)이 유방암을 비롯한 여러 고형종양에서 널리 시도되고 있으며, 이에 따르는 골수기능 저하를 회복시키기 위하여 PBSCT의 이용이 계속 증가되고 있다. 화학요법과 과립구 성장촉진인자 투여로 골수로부터 조혈모세포를 가동화시키는 술

식이 어느 정도 정립되어 있기는 하나 환자마다 가동시기가 상이하고 그 시기가 짧아 충분한 양의 조혈모세포를 얻기 위해서는 채집시기를 신중히 결정하여야 한다¹⁵⁾.

본 연구에서는 백혈구분반술 실시전 환자의 혈구수와 CD34⁺ 세포비율을 매일 측정하여 백혈구수가 $3 \times 10^9/L$ 이상이거나 CD34⁺ 세포가 총백혈구의 1% 이상인 상태에서 백혈구분반술을 실시하였다. 골수기능의 회복에 필요한 단핵구수는 보고자에 따라 $1\sim 8 \times 10^8/kg$, CD34⁺ 세포의 수는 $1\sim 5 \times 10^6/kg$ 으로 보고되고 있으나 아직 확인된 바는 없으며^{24\sim 26)}, 또 CD34항원을 발현하는 세포 중 CD34⁺, CD33⁺, HLA-DR⁺, CD71⁺, CD38⁺인 세포만이 진정한 조혈모세포인 것으로 알려져 있다²⁷⁾. 본 연구에서는 단핵구수 $8 \times 10^8/kg$, CD34⁺ 세포수 $5 \times 10^6/kg$ 를 목표로 분반술을 시행하였다. 저자들은 대용량 백혈구분반술로 채집된 CD34⁺ 세포의 아형 중 CD34⁺/HLA-DR⁺ 세포가 94.2%, CD34⁺/CD33⁺ 세포가 85.6%, CD34⁺/CD38⁺ 세포가 97.1%, 그리고 CD34⁺/c-kit⁺ 세포가 14.2%임을 보고한 바 있다¹⁸⁾.

1회 8~12L의 혈액을 시술하는 표준용량의 백혈구분반술(standard-volume leukapheresis)은 20~80mL/분의 혈류속도로 시행되며 이식에 필요한 충분한 양의 조혈모세포를 채집하기 위하여 평균 10회(6~17회)의 분반술을 시행하여야 하므로¹⁵⁾ 이와 같은 분반술의 횟수와 기간이 PBSCT의 문제점으로 늘 지적되어 왔다. 또 많은 횟수를 시행하게 되면 채집용량이 많아져 냉동보관시 소모품과 공간이 많이 필요하게 되고, 이식시 주입되는 DMSO의 양이 증가하게 되므로 환자에게 구토, 혈압상승 등의 DMSO 독성이 우려되었다. 이러한 단점을 보완하고자 본 연구에서는 1회 20L(3~4 blood volume)의 전혈을 시술하는 대용량 백혈구분반술(large-volume leukapheresis, LVL)을 85mL/분 이상의 속도로 시행하여 평균 2.4회의 시술로 충분한 수의 조혈모세포를 얻을 수 있었다. 혈류속도의 증가에 따른 citrate 독성을 방지하기 위하여 Fenwal CS3000 Plus의 경우 one blood volume 처리시마다 염화칼

슘을 0.3mg씩 정맥투여하였고, Cobe Spectra의 경우 전혈과 항응고제의 비율을 24:1까지 높이고 대신 헤파린(중외제약)을 추가로 사용함으로써 특별한 부작용은 관찰되지 않았다. 연구자에 따라 백혈구분반술 도중 전혈처리량 10L 이하와 15L 이상인 시점에서 시간대별로 채집백에서 일부를 채취하여 분석한 결과 전혈처리량이 많아질 수록 채집된 CFU-GM이 1.8~2.5배가 증가하였다고 보고하고 있다^{28, 29)}. 이와 같이 표준용량 시술시보다 많은 수의 조혈모세포를 채집할 수 있음은 대용량 백혈구분반술 자체가 조혈모세포 가동화의 한 방법이 될 수 있음을 시사해 주고 있다. 또 대용량 백혈구분반술 시행시 시간을 단축시키기 위하여 혈류속도를 증가시키는 경우가 많은데 이렇게 함으로써 가동화가 더욱 잘 이루어진다고 알려져 있으나, 일부 연구자는 오히려 혈류속도를 너무 증가시키지 않는 편이 더 효율적이라고 주장하기도 하였다³⁰⁾.

두 기기로 백혈구분반술을 실시한 환자군의 시술전 혈구수에는 차이가 없었다. 백혈구분반술 1회 실시후 혈마토크리트는 Fenwal CS3000 Plus군이 12.4%, Cobe Spectra군은 9.2%가 감소하였고($P < 0.05$), 혈소판수는 각각 53.1%, 36.1%가 감소하여 Cobe Spectra의 혈소판 감소율이 유의하게 적었다($P < 0.05$). 단핵구는 두 기기에서 각각 33.0%, 39.6%가 감소하고, CD34 비율은 각각 14.5%, 14.7%가 감소하여 두 군간에 유의한 차이가 없었다($P > 0.05$). 그러나 다른 연구자들은 Cobe Spectra로 실시한 경우에도 혈마토크리트와 혈소판수가 10%, 60% 내외로 감소하였다고 보고하여 Fenwal CS3000 Plus와 유사한 결과를 나타내었다^{28, 29)}.

Fenwal CS3000 Plus와 Cobe Spectra의 1회 평균 채집용량은 각각 135.7mL, 175.2mL로($P < 0.05$) 채집용량이 적을수록 냉동보관이 용이하였으며 DMSO 사용량이 적은 장점이 있었다. 1회 시술에 걸린 시간은 각각 252 ± 18 , 229 ± 12 분이었는데, Fenwal CS3000 Plus는 최고속도가 85mL/분으로 제한되어 있어 더 이상의 시간단축은 불가능하였다. 1회의 백혈구분반술로 채집된 총단핵구수는 각

말초 조혈모세포 채집을 위한 대용량 백혈구분반술

각 $2.0 \pm 1.1 \times 10^{10}$, $3.1 \pm 1.8 \times 10^{10}$ 이었고, 체중에 따른 단백구수는 $3.4 \pm 1.9 \times 10^8/kg$, $4.7 \pm 2.1 \times 10^8/kg$ 였다($P > 0.05$). 채집된 백혈구 중 단백구의 비율은 Fenwal CS3000 Plus가 평균 95.4%로 Cobe Spectra의 74.0%에 비하여 유의하게 높았는데 ($P < 0.001$), Cobe Spectra의 경우 가동화가 잘 이루어지지 않아 단백구총이 안정되지 못한 환자에 있어서 과립구의 혼입이 많은 경향을 보였다. 과립구 혼입이 많으면 동결 및 해동과정에서 과립구 파괴로 인하여 주입시 호흡기장애가 유발될 수 있으므로 이 점에 유의하여야 하겠다. Fenwal CS3000 Plus는 백혈구분반술 전반에 걸쳐 모든 술식이 자동화되어 있었고 도중에 원심을 멈추고 설정된 프로그램을 변화시킬 수 있는 반면, Cobe Spectra는 단백구 채집라인의 색을 육안으로 확인하면서 헤마토크리트가 2~3%가 되도록 colorgram을 보면서 수동으로 조작하여야 하는데 이점은 술식을 임의로 조절할 수 있다는 장점이 될 수도 있겠으나 환자에 따라서는 단백구총이 안정되지 못하여 시술이 끝날 때까지 계속 조절해 주어야 하는 불편함이 있었다. 따라서 Cobe Spectra의 경우 과립구의 혼입이 많았던 것은 이러한 수동조절의 영향이 아니었나 사료된다. CD34⁺ 세포의 비율은 각각 $2.3 \pm 2.1\%$, $2.4 \pm 2.6\%$ 로 1회의 백혈구분반술로 $7.2 \pm 11.2 \times 10^6/kg$, $7.4 \pm 9.6 \times 10^6/kg$ 의 CD34⁺ 세포를 얻을 수 있었다. 또한 두 기기의 단백구 채집능은 각각 $53.6 \pm 18.8\%$, $57.3 \pm 27.8\%$ 로 유의한 차이가 없었으며($P > 0.05$), 지금까지 보고된 채집능과 비슷한 결과를 보였다^{28, 31)}.

채집된 조혈모세포는 환자의 말초혈액 내 CD34⁺ 세포수와 유의한 상관성을 갖는다고 보고된 바도 있으나³²⁾ 본 연구에서는 무관하였고, 단지 채집된 단백구수가 환자의 분반술전 단백구수와 유의한 상관성을 나타내었으며($r=0.73$, $P < 0.05$)(Fig. 1) 이는 Olivيري 등³³⁾의 보고와도 일치하였다. 따라서 PBSC 채집시기를 결정함에 있어 말초혈액 단백구 수를 참고로 하는 것이 좋으리라 생각되었으며 본 연구에 따르면 1회의 백혈구분반술로 $3 \times 10^8/kg$ 이상의 단백구를 채집하기 위해서는 말초혈액 내 단

백구수가 $2 \times 10^9/\mu L$ 이상이어야 하는 것으로 관찰되었다. 한편 말초혈액내 CD34 양성세포의 비율이 1% 이하인 3명의 환자에서는 충분한 CD34⁺ 세포를 채집할 수 없었는데, 이중 2명에서는 항암요법으로 인한 골수의 섬유화가 그 원인으로 추측되었다.

채집된 단백구에 혼입된 적혈구의 용량은 Fenwal CS3000 Plus가 평균 34.1mL인데 비하여 Cobe Spectra가 10.5mL로 유의하게 적었다($P < 0.001$). Fenwal CS3000 Plus의 경우 술식의 설정에 있어서 yield를 높이고자 interface offset detector를 150으로 높게 설정하였으므로 적혈구 혼입이 많았던 것으로 사료된다. 적혈구의 혼입이 많으면 냉동 및 해동과정에서 용혈이 일어나 환자의 신손상이 예상되므로³⁴⁾ interface offset detector를 낮게 조절함으로써 적혈구 혼입을 줄일 수 있으리라 생각된다. 또 혈소판 혼입의 경우 Fenwal CS3000 Plus가 Cobe Spectra의 2배에 가깝다고 지적한 보고도 있었으나³⁵⁾ 본 연구에서는 두 기기에서 각각 2.3×10^{11} , 3.1×10^{11} 로 유의한 차이가 없었다($P < 0.05$).

혈액 및 고형종양 환자에게 말초 조혈모세포 채집을 위한 대용량백혈구분반술을 실시한 결과 큰 부작용 없이 적은 시술횟수로 충분한 양의 조혈모세포를 채집할 수 있어 안전하고도 편리한 술식으로 생각되었으며, 두 기기 모두 비교적 우수한 단백구 채집능으로 큰 불편함없이 단백구채집이 가능한 것으로 평가되었다. 그러나 두 기기를 비교해보면 Fenwal CS3000 Plus는 과립구 혼입이 적고 단백구 비율이 안정되어 있다는 장점이 있는 반면 혼입된 적혈구 용량이 많았고, Cobe Spectra는 적혈구의 혼입이 적고 환자의 혈소판수의 감소가 적은 장점이 있었던 반면 채집용량이 많고 특히 단백구 비율을 수기법으로 조절하여야 되므로 환자에 따라 과립구 혼입이 많은 단점이 있었다.

요 약

배경 : 말초 조혈모세포이식술(peripheral blood

stem cell transplantation)은 전신마취가 필요없고, 골수기능이 조기회복되는 등의 장점이 있어 혈액질환 및 고형종양에서의 이용이 증가하고 있다. 본 연구에서는 말초 조혈모세포 채집을 위하여 세브란스병원에 입원한 혈액 및 고형종양 환자 22명에서 Fenwal CS3000 Plus(Baxter Healthcare Co, Deerfield, IL, USA)와 Cobe Spectra(Cobe Laboratories, Lakewood, CO, USA)를 이용하여 말초조혈모세포 채집을 위한 대용량 백혈구분반술을 실시하고 그 성적을 비교해 보았다.

방법 :화학요법후 G-CSF를 $5\text{ }\mu\text{g}/\text{kg}$ 씩 매일 피하주사하고, 말초혈액내 백혈구수가 $3 \times 10^9/\text{L}$ 이상 또는 CD34^+ 세포가 총백혈구의 1% 이상되는 날부터 단핵구 $8 \times 10^8/\text{kg}$ 또는 CD34^+ 양성세포 $6 \times 10^6/\text{kg}$ 개가 채집될 때까지 매일 백혈구분반술을 20L씩 실시하였다. Fenwal CS3000 Plus는 A-35 collection chamber를 장착하고, 혈류 85mL/분, 전혈과 ACD-A의 비율 11~13:1, interface offset 150으로 설정하였다. Cobe Spectra는 혈류 90~100 mL/min, 전혈과 ACD-A의 비율 24:1, collection rate 1mL/분, 혈색소는 2~3%가 되도록 MNC procedure로 시행하였다. 채집액에서 1mL씩 무균적으로 채취하여 혈구수와 CD34^+ 세포(%)를 측정하였다.

결과 :총 53회의 분반술 중 35회는 Fenwal CS3000 Plus로 18회는 Cobe Spectra로 시행되었고, 환자당 평균 시술횟수는 2.4회였다. Fenwal CS3000 Plus와 Cobe Spectra의 평균 채집용량은 각각 135.7mL, 175.2mL 이었고, 단핵구 비율은 95.4%, 74.0%였다. 1회당 채집된 총단핵구는 각각 $2.0 \pm 1.1 \times 10^{10}$, $3.1 \pm 1.8 \times 10^{10}$ 개, 체중에 따른 단핵구는 $3.4 \pm 1.9 \times 10^8/\text{kg}$, $4.7 \pm 2.1 \times 10^8/\text{kg}$, CD34^+ 세포는 $7.2 \pm 11.2 \times 10^6/\text{kg}$, $7.4 \pm 9.6 \times 10^6/\text{kg}$, 그리고 채집효율은 $53.6 \pm 18.8\%$, $57.3 \pm 27.8\%$ 였다. 적혈구는 각각 $34.1 \pm 10.8\text{mL}$, $10.5 \pm 2.7\text{mL}$, 혈소판은 $2.3 \pm 2.1 \times 10^{11}$, $3.1 \pm 1.0 \times 10^{11}$ 개가 혼입되었고, 분반술후 환자의 혈구수는 혈색소치가 12.4%, 9.2%, 혈소판수가 53.1%, 36.1%, 그리고 단핵구수는 각각 33.0%, 39.6%가 감소하였다.

결론 :Fenwal CS3000 Plus는 평균채집용량이 적고 과립구 혼입이 적었으며, Cobe Spectra는 적혈구 혼입이 적고 환자의 혈소판수의 감소가 적은 장점을 보였다. 또한 두 기기 모두 3회 이하의 시술횟수로 충분한 양의 조혈모세포를 채집할 수 있는 우수한 단핵구채집능력을 보였으며, 1회 20L의 전혈을 처리하는 대용량 백혈구분반술 도중 환자들에게 심한 저칼슘 증상 등의 부작용은 관찰되지 않았다.

참 고 문 헌

- Haines ME, Goldman JM, Worsley AM, McCarthy DM, Wyatt SE, Dowding C, Kearney L, Th'ng KH, Wareham JNJ, Pollock A, Galvin MC, Samson D, Geary CG, Catovsky D : *Chemotherapy and autografting for patients with chronic granulocytic leukaemia in transformation: probable prolongation of life for some patients.* Br J Haematol 58:711-722, 1984
- Juttner CA, To LB, Haylock DN, Branford A, Kimber RJ : *Circulating autologous stem cells collected in very early remission from acute nonlymphoblastic leukaemia produce prompt but incomplete haematopoietic reconstitution after high dose melphalan or supralethal radiotherapy.* Br J Haematol 61:739-745, 1985
- Kessinger A, Armitage JO, Smith DM, Landmark JD, Bierman PJ, Weisenburger DD : *High-dose therapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for patients with lymphoma.* Blood 74:1260-1265, 1989
- Körbling M, Dörken B, Ho AD, Pezzutto A, Hunstein W, Fliedner TM : *Autologous transplantation of blood-derived hemopoietic stem cells after myeloablative therapy in a patient with Burkitt's lymphoma.* Blood 67:529-532, 1986

말초 조혈모세포 채집을 위한 대용량 백혈구분반술

- 5) Hénon PR, Beck G, Debeker A, Eisenmann JC, Lepers M, Kandel G : *Autograft using peripheral blood stem cells collected after high dose melphalan in high risk multiple myeloma.* Br J Haematol 70:254-255, 1988
- 6) Kessinger A, Armitage JO, Landmark JD, Weisemburger DD : *Reconstitution of human hemopoietic function with autologous cryopreserved circulating stem cells.* Exp Hematol 14:192-196, 1986
- 7) Zander AR, Lyding J, Bielack S : *Transplantation with blood stem cells.* Blood Cells 17:301-309, 1991
- 8) Hénon PR, Liang H, Beck-Wirth G, Eisenmann JC, Lepers M, Wunder E, Kandel G : *Comparison of hematopoietic and immune recovery after autologous bone marrow or blood stem cell transplants.* Bone Marrow Transplant 9:285-291, 1992
- 9) To LB, Roberts MM, Haylock DN, Dyson PG, Branford AL, Thorp D, Ho JQK, Dart GW, Horvath N, Davy MLJ, Lowency CLM, Abdi E, Juttner CA : *Comparison of hematological recovery times and supportive care requirements of autologous recovery phase peripheral blood stem cell transplants, autologous bone marrow transplants and allogenic bone marrow transplants.* Bone Marrow Transplant 9:277-284, 1992
- 10) Kessinger A, Armitage JO, Smith DM, Landmark JD, Smith DM, Weisenburger DD : *Autologous peripheral hematopoietic stem cell transplantation restores hematopoietic function following marrow ablative therapy.* Blood 71:723-727, 1988
- 11) Rosenfeld C, Charlene G, Shadduck RK, Zeigler ZR, Nemunaitis J : *Engraftment with peripheral blood stem cells using noncontrolled-rate cryopreservation: comparison with autologous bone marrow transplantation.* Exp Hematol 22:290-294, 1994
- 12) Korbling M : *Some principles of blood stem cell transplantation.* Transfus Sci 14:61-64, 1993
- 13) Cantin G, Marxhand-Laroche D, Bouchard MM, Leblond PF : *Blood-derived stem cell collection in acute nonlymphoblastic leukemia: predictive factors for a good yield.* Exp Hematol 17:991-996, 1989
- 14) To LB, Shepherd KM, Haylock DN, Cyson PG, Charles P, Thorp D, Dale BM, Dart GW, Roberts MM, Sage RE, Juttner CA : *Single high doses of cyclophosphamide enable the collection of high numbers of haemopoietic stem cells from the peripheral blood.* Exp Hematol 18:442-447, 1990
- 15) Kessinger A, Bierman PJ, Vose JM, Armitage JO : *High-dose cyclophosphamide, carmustine, and etoposide followed by autologous peripheral stem cell transplantation for patients with relapsed Hodgkin's disease.* Blood 77: 2322-2325, 1991
- 16) Bacigalupo A, Piaggio G, Podesta M, Van Lint MT, Valbonesi M, Lercari G, Mori PG, Pasino M, Franchini E, Rivabella L, Figari O, Sogno G, Raffo MR, Marmont AM : *Collection of peripheral blood hematopoietic progenitors (PBHP) from patients with severe aplastic anemia (SAA) after prolonged administration of granulocyte colony-stimulating factor.* Blood 82:1410-1414, 1993
- 17) Kessinger A, Schmit-Pokorny, Smith D, Armitage J : *Cryopreservation and infusion of autologous peripheral blood stem cells.* Bone Marrow Transplant 5(suppl 1):25-27, 1990
- 18) 민유홍, 남정현, 정소영, 이석, 이승태, 이정운, 김현옥, 권오헌, 한지숙, 고윤웅 : 급성 백혈병 환자에서 말초혈액 조혈모세포 수집을 위한 대용량 백혈구분반술. 대한혈액학회지 30:267-278, 1995
- 19) 이규보, 배선근, 손상균, 이재태, 이건수, 이경혜, 서장수 : 급성백혈병의 화학요법에서 조혈간세포 보충요법. 대한수혈학회지 6:169-175, 1995

- 20) 안진석, 박선양, 김병국, 민우성, 김춘추, 서철원, 김상희, 박희숙, 김동집 : 한국에서의 자가 골수이식 및 말초 조혈모세포이식 현황. 대한혈액학회지 31:133-142, 1996
- 21) Fenwal CS3000 Plus Blood Cell Separator Operator's Manual. Deerfield, IL., Baxter Healthcare Corporation, 42-46, 1991
- 22) COBE Spectra Apheresis System Operator's Manual. Lakewood, CO, Cobe Blood Component Technology. 8.1, 1993
- 23) James P : Collection of peripheral blood stem cells on Spectra. J Clin Apheresis 9:33-34, 1994
- 24) Hohaus S, Goldschmidt H, Ehrhardt R, Hass R : Successful autografting following myeloablative conditioning therapy with blood stem cells mobilized by chemotherapy plus rhG-CSF. Exp Hematol 21:508-514, 1994
- 25) Anderson KC : Autologous peripheral blood progenitor cell transplantation. J Clin Apheresis 10:131-138, 1995
- 26) Olivieri A, Offidani M, Ciniero L : Optimization of the yield of PBSC for autotransplantation mobilized by high-dose chemotherapy and G-CSF: proposal for a mathematical model. Bone Marrow Transplant 14:273-278, 1994
- 27) Boogaerts MA, Demuynck H : The changing face of stem cell transplantation by the use of recombinant human granulocyte colony stimulating factor. Eur JCancer30A(Suppl3):S34-39, 1994
- 28) Malachowski ME, Comenzo RL, Hillyer CD, Tiegerman KO, EM Berkman : Large-volume leukapheresis for peripheral blood stem cell collection in patients with hematologic malignancies. Transfusion 32:732-735, 1992
- 29) Hillyer CD, Tiegerman KO, Berkman EM : Increase in circulating colony-forming units-granulocyte-macrophage during large-volume leukapheresis: evaluation of a new cell separator. Transfusion 31:327-332, 1991
- 30) Lin JS, Bargstaler EA, Pineda AA, Gertz MA : Effects of whole blood flow rates on mononuclear cell yields during peripheral blood stem cell collection using Fenwal CS3000 plus. J Clin Apheresis 10:7-11, 1995
- 31) Korbling M, Juttner C, Henon P, Kessinger A : Autologous blood stem cell versus bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplant 10(Suppl 1):144-146, 1992
- 32) Comenzo RL, Vosburgh E, Weintraub LR, Tansan S, Arkin CF, Wright DF : Collection of mobilized blood progenitor cells for hematopoietic rescue by large-volume leukapheresis. Transfusion 35:493-497, 1995
- 33) Olivieri A, Offidani M, Ciniero L, Poloni A, Masia MC, Salvi A, Leoni P : Optimization of the yield of PBSC for autotransplantation mobilized by high-dose chemotherapy and G-CSF: proposal for a mathematical model. Bone Marrow Transplant 14:273-278, 1994
- 34) Hillyer CD, Tiegerman KO, Berkman EM : Density gradient separation of peripheral blood stem cells : comparison of an automated cell processing device and manual methods. Transfusion 30:824-827, 1990
- 35) Padley D, Strauss RG, Wieland M, Randels MJ : Concurrent comparison of the Cobe Spectra and Fenwal CS3000 for the collection of peripheral blood mononuclear cells for autologous peripheral stem cell transplantation. J Clin Apheresis 6:77-80, 1992