소아 백혈병환자에서의 염색체 분석

연세대학교 의과대학 소아과학교실, [1]임상병리학교실

기미나 · 김은아 · 유철주 · 양창현 · 김길영 · 최종락[1]

Chromosomal Analysis in Childhood Leukemia

Mi Na Ki, M.D., **Eun A Kim,** M.D., **Chuhl Joo Lyu,** M.D.
Chang Hyun Yang, M.D., **Kir-Young Kim,** M.D.
and **Jong Rak Choi,** M.D.[1]

Department of Pediatrics, [1]Department of Clinical Pathology,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: Chromosomal analysis has been helpful not only in pathophysiology of leukemia, but diagnosis, classification, management and predicting prognosis. However, little has been studied on chromosomal abnormality of pediatric leukemia in Korea. We have performed chromosomal analysis on childhood leukemia that we experienced, and tried to correlate chromosomal abnormalities with various types of leukemia. **Methods:** Subjects were 28 of 84 patients diagnosed with leukemia and have been discovered to have chromosomal abnormalities on chromosomal analysis employing G-banding technique in Yonsei medical center from July 1996 to February 1999. **Results:** Of the total 84 patients, Acute lymphocytic leukemia (ALL) accounted for 51 cases (61%), Acute myelocytic leukemia (AML), 30 cases (35%), Chronic myeloid leukemia (CML), 3 cases (4%). Chromosomal analysis in ALL: Of 51 cases, 9 cases (18%) showed chromosomal abnormality. Their mean age at diagnosis was 5.6±5.1 years. One case (12%) exhibited hyperploid (>50 chromosomes), 4 cases (44%) pseudodiploid, and marginally-hyperdiploid was seen in 4 cases (44%). Structural abnormality involving translocation was seen in 6 cases, where t(3;9), t(4;11), t(12;?) 1 case respectively, del (13) 2 cases, and I (q9) 1 case. Chromosomal abnormality in AML: Of total 29 cases, 17 cases (55%) were found to have chromosomal abnormalities, with their mean age ranging 7.6±6.4 years. t(8;21) was found to be the largest, accounting for 5 cases, and t(15;17), t(1;22), t(1;11), t(10;11), del(5), inv(9) 1 case respectively, 21 trisomy in 1 case, 11 trisomy in 1 case. Other complex chromosomal abnormality was seen in 2 cases. Upon analysis of relationship between the chromosomal abnormality and FAB subtypes, 4 cases of M2-subtype were found amongst 5 cases of t(8;21), but the other chromosomal abnormalities and subtypes failed to show any correlation. Chromosomal abnormality in CML: Two

책임저자: 양창현, 서울시 강남구 도곡동 146-92, 연세의대 영동세브란스병원 소아과, 135-720
Tel: 02-3497-3355, Fax: 02-3461-9473, E-mail: yangch22@yumc.yonsei.ac.kr

cases (67%) of chromosomal abnormalities were found in 3 with CML. Their mean age at diagnosis was 152.7 years, and all cases showed t(9;22). **Conclusion:** Our study found that in pediatric AML, t(8;21) showed high incidence and was found to be related with M2-subtype. In CML, t(9;22) was found to be frequent, but the data lacks in accuracy as our sample was too small. For more precise information on incidences of chromosomal abnormalities and the prognostic implications that the cytogenetic properties of leukemia, further studies seem to be essential. **(Korean J Pediatr Hematol Oncol 2001; 8: 231~237)**

Key Words: Chromosomal abnormality, Children, Leukemia

서 론

백혈병에서 염색체 이상은 악성변형의 지표이며 임상적으로 중요성이 대두되고 있다. 1960년에 Nowell과 Hungerford[1]에 의해 필라델피아 염색체(Philadelphia chromosome, 이하 Ph+)가 만성 골수성 백혈병(이하 CML)에서 발견된 이후 많은 사람들이 염색체 이상을 찾아냈지만 백혈병형과 염색체이상 사이에서 일치하는 관련성을 밝히지는 못했다. 그후 1970년대 Caspersson 등[2,3]에 의해 발달된 banding 기술과 세포배양으로 백혈병의 세포유전학적인 발전이 본격적으로 시작되었다. 염색체의 수적인 이상과 구조의 이상(전좌, 결손, inversion등)이 확인되었고, 염색체 이상과 백혈병형의 특징사이에 관련이 있음이 인식되었다[4]. 또 백혈병에서 염색체 이상은 클론성으로써 항암치료기간동안 염색체 이상은 사라지지만 재발시에 백혈병 세포들은 이차적인 변화와 함께 특징적인 염색체 이상을 나타낸다[5].

백혈병의 염색체 이상의 특이성에 대한 진전은 백혈병의 병태 생리뿐 아니라 진단, 분류 및 치료, 예후의 예측에 많은 도움이 되고 있고, 종양유전자, 종양 억제 유전자와 같은 유전자의 위치를 알아내는데 중요한 지표가 되고 있다.

그러나 국내에서는 소아 백혈병환자에서 염색체 이상의 특성에 관하여 보고된 바가 거의 없어 저자들은 그동안 경험한 백혈병 환아에서 염색체 이상의 종류와 그 빈도를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

본 연구는 1996년 6월부터 1999년 2월까지 연세의료원에서 백혈병으로 진단받은 환아 84명 중 염색체 검사결과 이상이 발견된 28례를 대상으로 후향적 연구를 하였다.

염색체 분석을 위한 표본은 골수세포를 이용하였으며, 염색체 분석은 G 분염법(G-banding)을 사용하였다. G 분염법은 중기세포(metaphase) 배양중인 세포 배양액 5 mL를 취하여 colcemid (10 μg/mL) 50 μL를 넣고 37°C 항온기에 약 25분간 배양하고 원심 분리하였다. 2,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 버리고 세포 덩어리를 잘 섞은 후, 미리 가온하여 두었던 0.75 M KCL 10 mL를 넣고 37°에서 20분간 더 반응시켰다. 신선한 Carnoy 고정액(methanol : glacial acetic acid=3 : 1)을 1 mL 더하여 섞은 다음 5분간 원심분리 하였다. 상층액은 제거 후 신선한 고정액을 다시 넣어 세포 부유액을 만들고 이 과정을 2~4회 반복 후 미리 냉장 보관한 슬라이드를 45°C로 유지하면서 세포를 떨어뜨리고 건조시켰다. G-banding을 위해서 슬라이드를 90°에서 20분간 가온하거나 실온에 하룻밤 두었다가 Hank's balanced salt 용액이 들어있는 coplin jar에 3~4장씩 담군 후 Enzar-Trypsin (Intergen Company, Purchase, NY, USA) 용

액에 슬라이드를 한 장씩 넣어서 약 2분 30초에서 2분 45초 사이 trypsin 처리를 하고, 70% ethanol에서 탈수한 후 Giemsa 염색을 하고 현미경으로 관찰하였다[6].

염색체 핵형은 International System for Human Cytogenic Nomenclature (ISCN)에서 제시한 기준에 의거하여 명명하였고[7], 클론성 염색체이상은 제1차 IWCL (International Workshop on Chromosomes in Leukemia)에서 제시한 기준에 의거하여 동일한 종류의 여분의 염색체나 구조상 재배열이 두개이상의 중기세포에서 관찰되거나, 동일한 종류의 염색체 손실이 3개 이상의 중기세포에서 관찰되는 경우로 정의하였다[8]. 결과의 통계처리는 chi-square test를 이용하였고 $P<0.05$에서 통계적으로 유의함을 인정하였다.

결 과

염색체 검사를 시행받은 84례 중 급성 림프구성 백혈병(Acute lymphocytic leukemia, ALL)환자는 51례, 급성 골수구성 백혈병(Acute myelocytic leukemia, AML)환자는 30례, 만성 골수성 백혈병(Chronic myeloid leukemia, CML)환자는 3례이었으며, 이 대상 환아들의 염색체분석결과 28례(33.3%)에서 염색체이상을 보였다. 염색체 이상을 나타낸 28례 중 ALL은 9명, AML환자는 17명, CML환자는 2명이었다.

1) ALL환자에서의 염색체 분석

ALL 환아 51례 중 9례(17.6%)에서 염색체 이상이 발견되었고 남·녀 비는 1.2 : 1이었고 진단 당시 평균 연령은 5.6±5.1세였다. 1례(11.1%)에서 hyperdiploid, 4례(44.4%)에서 pseudodiploid, 4례(44.4%)에서 marginally-hyperdiploid가 관찰되었고 염색체 전좌를 포함한 구조 이상이 6례가 있었다(Table 1).

ALL에서 전좌를 가진 그룹과 그렇지 않은 그룹사이에 완전 관해율은 P=0.134로 유의한 차이가 없었다(Table 2).

Table 1. Chromosomal Analysis in Acute Lymphocytic Leukemia

Chromosomal abnormalities	
Numerical abnormalities	9
Hyperdiploid (>50 chromosome)	1
Peudodiploid	4
Marginally-hyperdiploid (47~49 chromosome)	4
Structural abnormality	6
t(3;9)	1
t(4;11)	1
t(12;?)	1
del(13)	2
I(q9)	1

Table 2. Comparision of Complete Remission between Translocation and Non-translocation Group in Acute Lymphocytic Leukemia

		Translocation	Non-translocation
CR	Yes	1	5
	No	2	1

*P=0.134

2) AML환자에서의 염색체 분석

AML 환아 29례 중 17례(55%)에서 염색체 이상이 발견되었고 남·녀 비는 1.4 : 1이었고 진단시 평균연령은 7.6±6.4세였다. 염색체 이상은 t(8;21)이 5례(29%)로 가장 많았고 그 중 3례에서 성 염색체의 결실이 동반되었다. 염색체 이상과 FAB 아형과의 관계를 보면 t(8;21) 5례 중 4례에서 M2 아형이 관찰되었고 그 외 다른 아형과 염색체 이상간의 관련성은 관찰되지 않았다(Table 3).

AML에서 t(8;21) 그룹과 non-t(8;21) 그룹 사이 완전 관해율의 차이는 P값이 0.93으로 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 4).

3) CML환자에서의 염색체 분석

CML 환아 3례 중 2례(67%)에서 염색체 이상이 발견되었고 모두 여자 환아였으며 진단 시 평균

Table 3. Relation between Acute Myelocytic Leukemia and FAB Class

Group	M2	M3	M4	M5	M7	Total
t(8;21)	4	1				5 (29%)
t(15;17)		1				1
t(1;22)				1		1
t(1;11)				1		1
t(10;11)				1		1
t(9;11)			1			1
del(5)					1	1
inv(9)		1				1
21trisomy	1		1			2
11trisomy	1					1
Complex defect					2	2
Total	6	3	2	3	3	17

FAB: French-American-British

Table 4. Comparision of Complete Remission in AML Patients according to t(8;21) Positivity

		t(8;21)	non-t(8;21)
CR	Yes	1	5
	No	2	1

*P=0.93

연령은 15±2.7세였다.

고 찰

백혈병에서 염색체 이상의 빈도는 일반적으로 60~90%로 보고되고 있다. 그러나 보고된 빈도에서의 차이는 실험실에서 검사방법의 미숙함, 백혈병의 종류, 참여하는 환아의 수에 따라 다를 수 있으며, 염색체 이상이 없는 환아에서도 G-banding 방법으로는 보이지 않는 미소한 이상을 가진 경우에는 정상으로 나타날 수 있다[8].

ALL은 AML보다 중기(metaphase) 가 짧아서 세포 유전학 검사가 기술적으로 힘드나 검사 방법의 향상으로 많은 환아들에서 시행되고 있으며 백혈구수와 면역학적인 표현형(immunophenotype)과 더불어 중요한 예후인자로 생각되고 있다[9].

ALL은 일반적으로 90% 이상에서 염색체 이상이 있다고 보고되어지나 본 연구에서는 51례 중 9례(17.6%)로 매우 낮은 빈도를 보였는데 이는 검사방법이나 대상아 등 여러 요소가 관여하리라 생각된다. ALL은 Ploidy 수에 따라 분류된 경우 hyperdiploid (염색체수 50개 이상, DNA index >1.16)는 대략 소아에서 30%를 차지하고 비교적 치료에 반응이 좋으며[10,11], marginally hyperdiploid는 10~15%를 차지하며 구조의 이상을 동반되는 경우가 흔하다(약 75%)고 보고[12]되고 있다. Pseudodiploid는 약 40%로 가장 많은 빈도를 보이나 치료에 대한 반응은 낮다고 한다. 그 외 diploid는 10~30%, hypodiplod는 7~8%로 비교적 낮은 빈도로 보고되었다[13~16]. 구조의 이상은 전좌(translocation)가 많으며 특히 t(9;22)와 t(11q23)이 많이 보고되었으며 전좌를 동반한 환자는 재발이 잘되고 치료에 대한 반응이 낮은 것으로 보고되고 있다[17~20]. 본 연구에서는 ALL에서 수적인 염색체 이상은 전체 ALL 환아 51례 중 9례(18%)로 여러 보고들보다 낮은 빈도를 보였다. 또 hyperdiploid가 1례(12%), pseudodiploid가 4례(44%), marginally-hyperdiploid가 4례(44%)로 검사 기술과 적은 환아 수로 인해 일반적으로 알려진 빈도와 차이가 있으리라 생각된다. 전좌를 가진 군과 그렇지 않은 군 사이에 완해율을 분석한 결과 본 연구에서는 의미있는 차이가 없었으며 이 역시 대상아의 수가 제한적이라는 변수를 고려해야겠다.

AML에서 염색체 이상은 진단시 약 3분의 2에서 보고[21,22]되어지며, 보통 수의 이상은 15~20%에서 관찰된다. 급성 골수성 백혈병에서는 여러 종류의 특이적 클론성 염색체이상(specific clonal chromosomal abnormality)이 발견되었는데 가장 빈번히 관찰되는 것으로 특히 8 삼체성(trisomy 8), t(8;21), t(15;17), inv(16), del/t(11)(q23) 등이 있다[23]. 본 연구에서도 AML환아 30례 중 17례(55%)에서 염색체 이상이 관찰되었고 그중 t(8;21)이 5례(29%)로 가장 많았다. 이러한 특이적 클론성 염색체이상중의 일부에서는 특정 FAB아형과 연관성을 갖으면서 특징적인 임상 양상 및 예후를 나타

낸다는 사실이 알려져 왔는데 t(8;21)과 M2아형, t(15;17)과 M3아형, inv(16)과 M4Eo아형, 11q23의 이상과 M5아형사이의 연관성이 대표적인 예이며, M3, M6, M7은 소아 AML에서 드문 것으로 보고되었다[24,25]. 본 연구에서도 t(8;21)의 5례에서 M2가 4례로 비교적 높은 빈도를 보였다. 특히 AML의 M2형으로 t(8;21) 이상을 가진 경우에는 성염색체의 결손이 동반된 예들이 보고되었는데 본 연구에서도 t(8;21) 5례 중 3례에서 성염색체의 결손이 동반되었다. M3형에서 t(15;17)은 본 연구에서는 1례로 연관성이 없는 것으로 결과가 나왔으나 이는 대상아의 수가 너무 적어 의미가 없는 것으로 생각된다. 일반적으로 t(8;21)을 가진 경우 완전 관해율이 높아 예후가 좋은 것으로 보고[20]되었으나 본 연구에서는 t(8;21)군과 non-t(8;21)군 사이에 완해율의 의미있는 차이가 없었다.

CML은 어른에서 흔하고 소아에서는 빈도가 매우 낮다. 보통 특징적으로 t(9;22)인 Ph+염색체가 많이 관찰되는데 성인형에서는 90~95%가 보고되고 있고 연소형에서는 80%에서 정상 염색체이고 Ph+ 염색체가 거의 없는 것으로 알려져 왔다[26~28]. 본 연구에서는 CML이 3례가 있었는데 이 중 2례에서 염색체 이상이 있었고 모두 Ph+ 염색체 양성으로 평균 연령 15±2.7세인 성인형 CML이었다.

본 논문은 단순한 소아 백혈병형에 따른 염색체 이상과 특징에 대한 내용으로 보다 정확한 염색체 이상의 빈도와 백혈병에서 세포 유전학적 특징이 갖는 예후적 의의에 관해서는 보다 지속적인 연구가 필요하리라 본다.

요 약

서 론: 염색체의 분석이 백혈병의 병태 생리뿐만 아니라 진단, 분류 및 치료, 예후의 예측에 많은 도움이 되고 있으나 국내에서 소아 백혈병의 염색체 이상의 특성에 관하여 알려진 바가 거의 없었다. 저자들은 그동안 경험한 백혈병 환아에서의 염색체 분석을 시행하여 백혈병형에 따른 염색체 분석에 관해 알아보고자 한다.

방 법: 대상 환아는 1996년 6월부터 1999년 2월까지 연세의료원에서 G-banding 기술에 의해 염색체 분석을 시행받은 백혈병 환아 84례 중 이상이 발견된 28례를 대상으로 각 백혈병형에 따라 염색체를 분석하였다.

결 과: 전체 84례 중 급성 림프구성 백혈병(Acute lymphocytic leukemia, 이하 ALL)은 51례(61%)였고, 급성 골수성 백혈병(Acute myelocytic leukemia, 이하 AML)은 30례(35%), 만성 골수성 백혈병(chronic myeloid leukemia, 이하 CML)은 3례(4%)였다.

ALL에서의 염색체 분석: ALL환아 51례 중 9례(18%)에서 염색체 이상이 발견되었고, 진단 시 평균연령은 5.6±5.1세였다. 1례(12%)에서 Hyperploid (염색체수가 50개 이상), 4례(44%)에서 Pseudodiploid, 4례(44%)에서 marginally-hyperploid (47~49개의 염색체)가 관찰되었다. 염색체 전좌를 포함한 구조이상이 6례가 있었는데 t(3;9), t(4;11), t(12;?)이 각각 1례, del(13)이 2례, i(q9)가 1례 있었다.

AML에서의 염색체 이상: AML환아 29례 중 17례(55%)에서 염색체 이상이 발견되었고, 진단 시 평균 연령은 7.6±6.4세였다. 염색체 이상은 t(8;21)이 5례로 가장 많았고, t(15;17), t(1;22), t(1;11), t(10;11), del(5), inv(9)이 각각 1례, 21 삼체성이 1례, 11 삼체성이 1례이고 그 외 복잡한 염색체 이상이 2례에서 관찰되었다. 염색체 이상과 FAB 아형과의 관계를 보면 t(8;21) 5례 중 4례에서 M2 아형이 관찰되었고 그 외 다른 아형과 염색체 이상간에 관련성은 관찰되지 않았다.

CML에서의 염색체 이상: CML 환아 3례 중 2례(67%)에서 염색체 이상이 발견되었고, 진단시 평균연령은 15±2.7세였으며 모두 t(9;22)가 관찰되었다.

결 론: 본 연구에서는 소아 AML의 경우 t(8;21)의 빈도가 높고 M2 아형과 관련이 있는 것으로 관찰되었으며, CML에서 t(9;22)의 빈도는 높았으나 비교하는 환자수가 적어 정확성이 낮았다. 보

다 정확한 염색체 이상의 빈도와 백혈병에서 세포 유전학적 특징이 갖는 예후적 의의에 관해서는 보다 지속적인 연구가 필요하리라 본다.

참 고 문 헌

1. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. Science 1960;132:1497
2. Caspersson T, Zech L, Johansson C, Modest EJ. Identification of human chromosomes by DNA-banding fluorescent agents. Chromosoma 1970;30:215-27
3. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet 1972;11:971-2
4. Heerema NA, Nachman JB, Sather HN, Sensel MG, Lee MK, Hutchinson R, et al. Hypodiploidy with less than 45 chromosomes confers adverse risk in childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the children's cancer group. Blood 1999;94:4036-46
5. Estey E, Keating MJ, Pierse S, Stass S. Change in karyotype between diagnosis and first relapse in acute myelogenous leukemia. Leukemia 1995;9:972-6
6. Barch MJ, Knutten T, Spurbeck JL. The AGT cytogenetics. Laboratory manual, 3rd ed, Philadelphia, 1997;77-171
7. ISCN (1991). Guidelines for Cancer Cytogenetics. Supplement to System for Human Cytogenetics Nomenclature. F. Milteman (ed) Karger: Basel. 1991; 23-29
8. Williams ME, Swerdlow SH, Rosenberg CL, Arnold A. Chromosome 11 translocation breakpoints at the PRAD1/Cyclin D1 gene locus in centrocytic lymphoma. Leukemia 1993;7:241-5
9. Raimondi SC. Current status of cytogenetic research in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 1993;70:2237-5112.
10. Look AT. The emerging genetics of acute lymphoblastic leukemia: Clinical and biological implication. Semin Oncol 1985;12:92-104
11. Sandberg AA. The chromosomes in human cancer and leukemia. 2nd Ed, Elsevier, New York 1990;25-37
12. Raimondi SC, Robertson PK, Pui CH, Behm FG, Rivers GK. Hyperdiploid (47～50) acute lymphoblastic leukemia in children. Blood 1992;79:3245-52
13. Third International Workshop on chromosomes in Leukemia 1980. Clinical significance of chromosomal abnormalities in acute lymphoblastic leukemia. Cancer Genet Cytogenet 1981;4:111-37
14. Secker-Walker LM, Swansbury GJ, Hardisty RM, Sallan SE, Garson OM, Sakura M, et al. Cytogenetics of acute lymphoblastic leukemia in children as a factor in the prediction of long-term survival. Br J Haematol 1982;52:389-99
15. Third International Workshop on Chromosomes in Leukemia. Chromosomal abnormalities and their clinical significance in acute lymphoblastic leukemia. Cancer Res 1983;43:868-73
16. Williams DL, Tsiatis A, Brodeur GM, Look AT, Melvin SL, Bowman WP, et al. Prognostic importance of chromosome number in 136 untreated children with acute lymphoblastic leukemia. Blood 1982;60:864-71
17. Williams DL, Look AT, Melvin SL, Roberson PK, Dahl G, Flake T, et al. New chromosomal translocations correlate with specific immunophenotypes of childhood acute lymphoblastic leukemia. Cell 1984; 36:101-9
18. Williams DL, Harber J, Murphy SB. Chromosomal translocations play a unique role in influencing prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. (manuscript submitted)
19. Bloomfield CD, Lindquist LL, Arther D, Mckenna RW, LeBien TW, Nesbit ME, et al. Chromosomal abnormalities in acute lymphoblastic leukemia. Cancer Res 1981;41:4838-43
20. Henderson ES, Lister TA, Greaves MF. Molecular cytogenetics of leukemia. Leukemia 6th ed., 1996;7: 131-44
21. Fenaux P, Preudhomme C, Lai JT, Mord P, Benscart R, Bauters E. Cytogenetics and their prognostic value in de novo acute myeloid leukemia. A report of 283 cases. Br J Haematol 1989;73:61-7
22. Takatsuki H, Sadamura S, Umemura T, Abe Y, Goto T, Yufu Y, et al. PML/RARA α fusion gene is expressed in both granuloid/macrophage and erythroid colonies in acute promyelocytic leukemia. Br J Haematol 1993;85:477-82
23. Sandberg AV, Zong C. Cytogenetics of acute leukemia. Neoplastic Disease of the Blood 1996;15:245-67
24. Kalwinsky DK, Raimond SC, Schell MJ, Mirror J Jr, Santas VH, Behm F, et al. Prognostic importance of cytogenetic subgroups in de novo pediatric acute non-lymphocytic leukemia. J Clin Oncol 1990;8:75-83
25. Woods WG, Nesbit ME, Buckley J, Lampkin BC, McCreadie S, Kim TH, et al. Correlation of chromosome abnormalities with patient characteristics, histologic subtype, and induction seccess in children with

acute non-lymphocytic leukemia. J Clin Oncol 1985; 3:3-11
26. Rowley JD. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinqcrine fluorescence and giemsa staining. Nature 1973;243:290-3
27. Rowley JD. Chromosome abnormalities in human leukemia. Annu Rev Genet 1980;14:17-21
28. Clarissa M, Alison W, David LP. Chronic myelogenous leukemia: Extending the prospects for cure. Hospital practice, New York, 1998;33:137-46