

## 동종 조혈모세포 이식에서 생착 및 재발 판정을 위한 STR marker 검사의 유용성

홍하늘<sup>1</sup>, 이난영<sup>2\*</sup>, 박준철<sup>3</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 의과대학 수사과학대학원, <sup>2</sup>임상병리학교실, <sup>3</sup>계명대학교 의과대학 산부인과교실

### Usefulness of STR marker test for evaluation of engraftment and recurrence in allogenic hematopoietic stem cell transplantation

Ha Neul Hong<sup>1</sup>, Nan Young Lee<sup>2\*</sup>, Joon Cheol Park<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Medicolegal Investigation, Graduate School of Forensic and Investigative Science

<sup>2</sup>Department of Clinical Pathology, School of Medicine, Kyungpook National University

<sup>3</sup>Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Keimyung University

**요약** 본 연구는 혈액 암이나 골수기능부전 환자에서 동종 조혈모세포 이식 후 short tandem repeats(STR) marker를 이용한 키메리즘 분석이 이식의 생착 및 재발 판정에 도움이 되는지 알아보고자 하였다. 2019년 5월부터 2020년 12월까지 144명의 말초혈액과 골수검체를 이용한 STR marker 검사와 골수도말검사를 분석하였다. 완전 키메리즘 군은 83.3 % (120/144), 혼합 키메리즘 군은 16.7 % (24/144)이며, 급성골수백혈병 75명(52.1 %), 급성림프모구백혈병 27명(18.8 %), 골수형성이상증후군 22명(15.3 %), 재생불량빈혈 9명(6.3 %), 기타 11명(7.6 %)이었다. 추적기간 중 급성백혈병에서 완전 키메리즘 군은 모두 재발을 보이지 않았고, 혼합 키메리즘 군에서 재발율은 45.0 % (9/20)이었다. 사망률은 완전 키메리즘 군은 15.8 % (19/120), 혼합 키메리즘 군은 70.8 % (17/24)로 유의하게 높게 나타났다. 혼합 키메리즘 군에서 진단명에 따라 연령, 성별, 사망률, 첫 진단부터 조혈모세포 이식까지, 이식 후 재발까지, 이식 후 재발부터 사망까지, 이식부터 사망까지의 기간들을 비교하였으나 유의한 차이가 없었다. STR marker를 이용한 키메리즘 분석은 말초혈액으로 검사가 가능하며, 침습적인 골수 채취와 달리 검체채취가 용이하여 이식 후 환자의 생착 및 재발 여부 확인에 간편하고 유용한 검사로 판단된다.

**Abstract** This study aimed to investigate whether chimerism analysis using STR markers after allogeneic hematopoietic stem cell transplant (HSCT) could determine engraftment and recurrence in patients with hematologic malignancy or bone marrow (BM) failure. From May 2019 to December 2020, the results of the STR marker test using peripheral blood and BM specimens and BM aspiration smear of 144 subjects were analyzed. There were 83.3% (120/144) patients in the complete chimerism (CC) group and 16.7% (24/144) in the mixed chimerism (MC) group. Of these, 75 (52.1 %) had acute myeloid leukemia(AML), 27 (18.8 %) acute lymphoblastic leukemia, 22 (15.3 %) myelodysplastic syndrome, 9 (6.3 %) aplastic anemia and 11 (7.6 %) had other conditions. During the follow-up period, in the AML group, none of the patients in the CC group had a recurrence, but 45% (9/20) of the patients in the MC group had a recurrence. The mortality rate was 15.8% (19/120) in the CC group and was significantly higher in the MC group at 70.8% (17/24). In the MC group, age, gender, mortality rate and time periods during diagnosis~HSCT, post-transplant~recurrence, recurrence~death, and transplant~death were compared, and no significant differences were observed. The results suggest that the chimerism analysis using STR markers can be performed using peripheral blood, and sample collection is easier than an invasive procedure. It is a convenient and useful test for monitoring engraftment and recurrence after transplantation.

**Keywords** : Chimerism Analysis, STR Markers, Allogenic, Stem Cell Transplant, Engraftment, Recurrence

본 논문은 홍 하 늘의 석사학위논문 발췌본임.

\*Corresponding Author : Nan Young Lee(Kyungpook National Univ.)

email : wonjin777@hanmail.net

Received February 7, 2022

Revised March 3, 2022

Accepted March 4, 2022

Published March 31, 2022

## 1. 서론

동종 조혈모세포 이식은 급성골수백혈병, 급성림프모구백혈병 등 혈액 암이나 골수형성이상증후군, 재생불량빈혈 등 골수기능부전인 환자에게 동종 조혈모세포 주입을 통해 골수기능을 회복시키는 치료법이다[1]. 이러한 이식 후 환자 유래의 조혈모세포는 소실되고 공여자의 세포로만 구성되어 있는지 확인하는 것은 중요하며, 이는 공여자 조혈모세포의 생착 확인 및 혈액 종양의 재발이나 이식편대숙주병과 같은 이식거부반응의 조기 예측 및 적절한 치료가 가능하기 때문이다[2,3].

환자의 조혈세포가 공여자의 세포로 완전히 구성되어 있으면 완전 키메리즘(complete chimerism)이라 하며, 공여자와 환자의 조혈세포가 공존하는 상태이면 혼합 키메리즘(mixed chimerism)이라 한다. 일반적으로 완전 키메리즘 상태가 유지되는 것은 재발의 위험도가 낮다고 알려져 있다. 반면 혼합 키메리즘이 있는 경우는 재발이 증가하는 것으로 보고되었다[4]. 이러한 조혈모세포 이식 후 생착 및 재발 판정에는 적혈구 표현형 검사, 골수도말 검사, 면역표현형 검사(Cluster of Differentiation Antigen marker, CD marker), 유세포 검사, Y-염색체 검사 등이 이용되었으나, 적혈구 표현형 검사와 골수도말검사를 통한 골수 판독은 예민도가 낮아 초기 임상 양상의 변화를 예측하기 힘든 단점이 있으며, Y-염색체 검사는 같은 성별의 공여자로부터 이식받은 경우나 특이한 클론성의 염색체 변화가 없을 경우는 진단에 유용한 정보를 얻기 힘들어 초기 이식편 거부나 급성 이식편대숙주병의 진단에 활용하기 어려운 점이 있다[2, 5]. 이러한 이유로 인해 1990년대 이후로 short tandem repeats (STR), variable number of tandem repeat (VNTR), 제한 효소 절편 길이 다형성(restriction fragment length polymorphism, RFLP)과 같은 DNA의 다형성(polymorphisms)을 이용한 분자유전학적 키메리즘 분석법이 주로 이용되고 있다[2-4]. 이 중 RFLP는 DNA를 제한효소 처리 후 Southern blot을 시행하므로 비교적 많은 시간이 소요되며 다량의 DNA가 필요하다는 단점이 있다[4]. 하지만 STR과 VNTR은 인간 게놈의 인트론에 짧은 염기서열의 단위가 연속적으로 반복되는 부분으로 개인마다 다른 반복 횟수에 따른 길이 다형성 분석을 통해 더 민감한 키메리즘 분석이 가능하다[6].

조혈모세포 이식의 생착 및 재발 평가를 위해 혈액이나 골수를 사용하는 검사는 환자의 검체량이 제한적인 경우가 많기 때문에 소량의 DNA로 검사가 가능한 STR

이나 VNTR이 더 유용한 것으로 보고되었다[6]. VNTR은 염색체 말단부에 위치하고 10~75 bp의 염기서열이 반복되는데 비하여 STR은 2~7 bp가 반복되고 인체 염색체에 비교적 넓게 분포되어 있는 특징으로 인해 동종 조혈모세포 이식의 생착 및 재발의 식별에 STR marker 분석이 국내외에서 많이 시행되고 있다[2]. 키메리즘은 대개 10개 미만의 STR marker를 이용하여 분석하고 있으나 동종 조혈모세포 이식의 경우 주로 혈연관계에서 시행되므로 대립유전자의 양상이 비슷한 경우가 많아 최대한 많은 STR marker를 이용하여 키메리즘 분석을 시행할 필요가 있다[5].

따라서 본 연구는 총 16개의 STR marker를 이용한 키메리즘의 분석과 동시에 골수도말검사 판독 결과를 관찰함으로써 동종 조혈모세포 이식의 생착 및 재발을 판정하는데 도움이 되는지 알아보고자 하였다.

## 2. 연구 대상 및 방법

### 2.1 연구 대상

국내 대학병원에서 2019년 5월부터 2020년 12월까지 약 20개월 간 급성골수백혈병, 급성림프모구백혈병, 골수형성이상증후군, 재생불량빈혈 등의 혈액질환을 진단받고 동종 조혈모세포 이식 후 STR marker 검사를 시행한 환자 144명을 대상으로 하였다.

대상자들을 완전 키메리즘 군과 혼합 키메리즘 군으로 나누어 환자의 임상적 특징 및 재발율과 사망률을 분석하였으며, 혼합 키메리즘 군은 진단명에 따라 분류하여 주된 진단에 속하는 대상자들에 대해 진단명에 따른 키메리즘 및 골수도말검사의 결과를 비교 분석하였다. 혼합 키메리즘 군에 대해서 첫 진단일로부터 사망일까지 혹은 마지막 추적 관찰 일까지를 생존 기간으로 정의하여, 첫 진단일로부터 조혈모세포 이식까지, 이식에서 혼합 키메리즘까지, 혼합 키메리즘에서 사망까지, 이식에서 사망까지의 기간에 대한 차이를 조사 분석하는 후향적 연구를 수행하였다. 본 연구는 생명윤리위원회의 심의 면제로 승인받았다(2021-09-018).

### 2.2 연구 방법

#### 2.2.1 DNA 추출

EDTA 항응고제 처리된 말초혈액 또는 골수 검체로 QIAamp<sup>®</sup> DNA mini kit (QIAGEN<sup>®</sup>, Hilden, Germany)와

핵산 자동화 추출기기 QIAcube™ (QIAGEN®)를 이용하여 genomic DNA를 추출하였다.

### 2.2.2 PCR 시행

추출된 genomic DNA로 16개의 primer set을 사용하여 multiplex PCR을 시행하였다. PCR은 PCR reaction mix 10.5 µl, AmpliTaq GOLD DNA polymerase 0.5 µl, primer set 5.5 µl, 추출된 DNA 10 µl를 넣고 pre-denaturation은 95 °C에 11분 후 94 °C에 1분, 59 °C에 1분, 72 °C에 1분으로 28 cycles을 시행하였으며, final extension은 60 °C에 60분 시행하였다.

### 2.2.3 DNA 프로파일링

PCR 반응이 완료된 검체는 ABI 3500xl genetic analyzer (Applied Bio systems, CA, USA)를 이용한 모세관 전기영동법으로 분석하였으며, DNA 프로파일링은 GeneMapper 4.1 Software (Applied Biosystems)를 이용하여 분석하였다.

STR marker로는 상염색체에 존재하는 15개의 STR marker와 1개의 성 유전자(Amelogenin)를 포함하여 총 16개를 이용하였다(Table 1).

이식 전에 환자와 공여자의 STR marker를 비교 분석하여 그 정보를 확인한 다음 이식 후 환자의 STR marker가 공여자의 STR marker로 완전 키메라즘 여부를 확인하였다.

### 2.2.4 판정기준

완전 키메라즘은 동종 조혈모세포 이식 후 공여자의 세포로 완전 치환되지 못하고 남아있는 수여자 세포의 함량을 뜻하는 평균 수여자 키메라즘(average recipient chimerism)이 5 % 미만인 경우로 정의하였다. 혼합 키메라즘은 한 개 이상의 STR marker에 대해 수여자와 공여자의 것이 혼합되어 있으며, 평균 수여자 키메라즘이 5 % 이상인 경우로 정의하였다. 첫 검사일부터 마지막 검사 시행일까지 지속적인 완전 키메라즘을 보인 경우는 완전 키메라즘 군으로, 1회라도 혼합 키메라즘을 보인 경우는 혼합 키메라즘 군으로 분류하였다[7].

혈액 암의 경우 골수도말검사서 급성골수백혈병은 골수모세포가 30 % 이상, 급성림프모구백혈병은 림프모세포 비율이 30 % 이상 발견될 때 재발로 정의하였으며, 비혈액 암인 골수형성이상증후군과 재생불량빈혈은 형태

학적 이상이 골수나 말초혈액에 다시 관찰될 때로 정의하였다[7].

Table 1. Description for 16 STR markers.

Locus	Chromosome location	Alleles included in AmpFI STR® Identifier® allelic Ladder
D8S1179	8	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19
D21S11	21q11.2-q21	24, 24.2, 25, 26, 27, 28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36, 37, 38
D7S820	7q11.21-22	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
CSF1PO	5q33.3-34	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
D3S1358	3p	12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19
TH01	11p15.5	4, 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10, 11, 13.3
D13S317	13q22-31	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
D16S539	16q24-qter	5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
D2S1338	2q35-37.1	15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28
D19S433	19q12-13.q	9, 10, 11, 12, 12.2, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 15.2, 16, 16.2, 17, 17.2
vWA	12p12-pter	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24
TPOX	2p23-2per	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13
D18S51	18q21.3	7, 9, 10, 10.2, 11, 12, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27
Amelogenin	X:p22.1-22.3 Y:p11.2	X, Y
D5S818	5q21-31	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
FGA	4q28	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 26.2, 27, 28, 29, 30, 30.2, 31.2, 32.2, 33.2, 42.2, 43.2, 44.2, 45.2, 16.2, 17.2, 18.2, 50.2, 51.2

### 2.3 분석 수단

STR marker 검사 결과를 후향적으로 분석하였으며, 통계분석은 Microsoft Excel (Microsoft Corporation, redmond, WA, USA), R version 4.1.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) 프로그램을 이용하였다. 완전 키메라즘과 혼합 키메라즘 두 군 간의 비교 분석은 독립 T 검정, 카이제곱 검정을 시행하였으며, P 값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

### 3. 연구 결과

#### 3.1 완전 키메리즘 군의 특성

완전 키메리즘 군은 120명으로 남자 70명(58.3%), 여자 50명(41.7%)이었으며, 평균 연령은 47.6 (19~67)세이었다. 진단의 분류는 급성골수백혈병 60명(50.0%), 급성림프모구백혈병 22명(18.3%), 골수형성이상증후군 20명(16.7%), 재생불량빈혈 7명(5.8%), 기타 11명(9.2%)이었다. 대상자 모두 첫 진단일로부터 마지막 검사 시행일까지 재발되지 않았으며, 완전 키메리즘 상태를 유지하였으나 19명(15.8%)이 치료 중 사망하였다(Table 2).

#### 3.2 혼합 키메리즘 군의 특성

혼합 키메리즘 군은 24명으로 남자 15명(62.5%), 여자 9명(37.5%)이었으며, 평균 연령은 45.3 (20~68)세이었다. 첫 진단일로부터 사망 또는 치료 종료 시점까지 추적기간은 평균 2.7 (0.7~4.1)년이었다. 진단은 급성골수백혈병 15명(62.5%), 급성림프모구백혈병 5명(20.8%), 골수형성이상증후군 2명(8.3%), 재생불량빈혈 2명(8.3%) 순이었다. 대상자 모두 완전 키메리즘을 유지하다 혼합 키메리즘으로 전환되었으며, 급성백혈병 20명 중 골수도말검사서 모세포 비율이 30% 이상으로 재발을 보인 환자는 9명(45.0%)이었다. 혼합 키메리즘 환자 군 24명 중 17명(70.8%)이 치료 중 사망하여 완전 키메리즘 환자 군에 비해 높은 사망률을 보였다.

Table 2. Comparison of characteristics between complete chimerism and mixed chimerism groups N (%), M±SD.

Characteristics		CC group	MC group
Age		47.6±15.2	45.3±14.5
Gender	Male	70 (58.3 %)	15 (62.5 %)
	Female	50 (41.7 %)	9 (37.5 %)
Diagnosis	AML	60 (50.0 %)	15 (62.5 %)
	ALL	22 (18.3 %)	5 (20.8 %)
	MDS	20 (16.7 %)	2 (8.3 %)
	AA	7 (5.8 %)	2 (8.3 %)
	ect	11 (9.2 %)	0 (0.0 %)
Relapse	No	82 (100.0 %)	11 (55.0 %)
	Yes	0 (0.0 %)	9 (45.0 %)
Death	No	101 (84.2 %)	7 (29.2 %)
	Yes	19 (15.8 %)	17 (70.8 %)

CC: complete chimerism, MC: mixed chimerism, AML: acute myeloid leukemia, ALL: acute lymphoblastic leukemia, MDS: myelodysplastic syndromes, AA: aplastic anemia.

#### 3.3 완전 키메리즘 군과 혼합 키메리즘 군 간의 비교

완전 키메리즘 군에서는 재발이 관찰되지 않았으나 혼합 키메리즘 군에서 급성골수백혈병 6명과 급성림프모구백혈병 3명으로 총 9명, 45.0% (9/20)에서 재발되었으며, 통계적으로 유의한 차이를 보였다( $P < 0.01$ ). 골수형성이상증후군과 재생불량빈혈은 형태학적 기준이 모호하여 재발 판정에서 제외하였다.

두 군 간의 성별( $P = 0.88$ ), 연령( $P = 0.49$ ), 진단 분류의 유형( $P = 0.41$ )에는 유의한 차이가 없었다. 사망률은 완전 키메리즘 군과 혼합 키메리즘 군 각각 15.8% (19/120)와 70.8% (17/24)로 통계적으로 유의한 차이를 보였다( $P < 0.01$ ).

#### 3.4 혼합 키메리즘 군에서 진단명에 따른 비교 분석

##### 3.4.1 급성골수백혈병

총 15명으로 남자 9명(60.0%), 여자 6명(40.0%)이었으며, 평균 연령은 43.6 (20~68)세이었다. 첫 진단일로부터 동종 조혈모세포 이식까지의 평균기간은 8.4 (3.2~31.7)개월이었다. 혼합 키메리즘이 관찰된 이후 사망까지 평균기간은 생존자 4명을 제외한 11명에서 3.2 (1.3~7.1)개월이었으며, 조혈모세포 이식 후 사망까지 평균기간은 13.2 (3.3~54.9)개월이었다(Table 3).

Table 3. Characteristics of AML patients.

Case	Gender	Age	Duration (days)		
			1st Dx ~ HSCT	HSCT ~ MC	HSCT ~ death
1	F	60	549	554	-
2	F	55	217	408	565
3	M	28	151	62	161
4	M	20	103	215	274
5	M	53	176	308	368
6	F	54	168	47	109
7	M	25	966	21	238
8	F	50	177	147	333
9	M	26	113	1,433	1,672
10	F	40	167	95	143
11	M	25	253	370	484
12	F	58	192	55	100
13	M	30	285	277	-
14	M	68	99	841	-
15	M	59	236	579	-
Mean ±SD		43.0 ±16.2	256.8 ±224.3	360.8 ±379.1	404.3 ±446.9

Dx: Diagnosis, HSCT: hematopoietic stem cell transplantation, MC: mixed chimerism.

조혈모세포 이식 후 첫 STR 검사는 평균 22.0 (14~32)일 후에 시행되었으며, 14명은 완전 키메리즘을 보였다. 하지만, 1례에서 21일 만에 평균 수여자 키메리즘이 74.06 %로 증가된 혼합 키메리즘을 보였으며, 골수도말검사에서 골수모세포 비율도 97.4 %로 증가하여 재발을 보였다. 15명 모두 첫 진단 후 처음 시행된 골수도말검사에서 골수모세포 비율이 15.6 % (15.6~84.4 %) 이상의 소견을 보였다. 조혈모세포 이식 후 첫 골수도말검사는 평균 22.0 (20~32)일 후에 시행되었으며, 골수모세포는 1.8 % (0.6~1.8 %) 미만이었지만, Case 6은 92.8 %, Case 7은 97.4 %, Case 10은 71.4 %였다.

조혈모세포 이식 후 완전 키메리즘 상태를 유지하다가 혼합 키메리즘의 관찰까지는 평균 11.8 (0.7~47.6)개월이었으며, 골수도말검사에서 이식 후 첫 재발 소견까지는 평균 14.0 (2.2~47.6)개월이었다. 재발을 보인 6례 (Case 4, 5, 6, 9, 10, 11)에서 조혈모세포 이식 후 첫 혼합 키메리즘으로 평균 수여자 키메리즘이 평균 50.9 % (13.60~82.71 %), 골수도말검사 골수모세포 비율이 평균 77.4 % (52.4~92.8 %)를 나타내어 골수도말검사 결과가 키메리즘 분석에 비해 높은 수치로 나타났다. 나머지 9례는 조혈모세포 이식 후 추적 관찰 종료 기간까지 골수도말검사를 시행하지 않았거나 재발 소견을 보이지 않았다. 사망자 11례에서 사망 전 마지막 키메리즘 분석 결과는 13.7 % (13.66~85.77 %) 이상, 골수도말검사에서 골수모세포 비율은 0.8 % (0.8~97.4 %) 이상이었다. 하지만 이 중 3례(Case 2, 5, 8)는 평균 2.6 (1.3~3.9)개월 동안 완전 키메리즘을 유지하다 사망하였다.

### 3.4.2 급성림프모구백혈병

총 5명으로 남자 3명, 여자 2명이었으며, 평균 연령은 48.8 (41~62)세이었다. 첫 진단일로부터 동종 조혈모세포 이식까지의 평균 기간은 19.8 (4.9~50.6)개월, 생존자 1명을 제외하고 혼합 키메리즘이 관찰된 이후 사망까지의 평균기간은 2.3 (0.7~4.5)개월, 이식 후 사망까지 평균기간은 11.1 (9.2~13.8)개월이었다(Table 4). 조혈모세포 이식 후 완전 키메리즘 상태를 유지하다 혼합 키메리즘이 나타나기까지는 평균 5.8 (3.0~9.6)개월이었으며, 골수도말검사에서 이식 후 첫 재발까지 6.7 (4.6~9.6)개월이었다. 재발을 보인 3례 중 2례(Case 2, 3)는 조혈모세포 이식 후 첫 혼합 키메리즘으로 평균 수여자 키메리즘이 66.2 % (57.04~75.45 %), 골수도말검사의 림프모세포가 평균 42.5 % (36.0~48.8 %)로 키메리즘 분석 결과가 골수도말검사에 비해 높은 수치를 보

였다. 하지만 나머지 1례(Case 1)는 골수도말검사에서 림프모세포 66.2 %, 평균 수여자 키메리즘이 29.67 %로 골수도말검사에서 더 높은 수치를 보였다.

Table 4. Characteristics of ALL patients.

Case	Gender	Age	Duration (days)		
			1st Dx ~ HSCT	HSCT ~ MC	HSCT ~ death
1	M	42	148	140	276
2	M	41	558	186	-
3	M	52	191	293	315
4	F	62	578	92	422
5	F	47	1,543	-	-
Mean ±SD		48.8 ±8.6	603.6 ±561.9	177.8 ±85.9	337.7 ±75.6

Dx: Diagnosis, HSCT: hematopoietic stem cell transplantation, MC: mixed chimerism.

5명 모두 첫 진단 후 처음 시행한 골수도말검사에서 림프모세포는 77.3 % (77.3~94.9 %) 이상으로 나타났다. 이식 후 골수도말검사는 평균 29.3 (20~48)일 후에 시행되었으며, 림프모세포는 모두 2.4 % (0.3~2.4 %) 이하이었다. 이식 후 첫 STR 검사는 평균 29.5 (21~48)일 후에 시행되었으며, 4례(Case 1, 2, 3, 4)는 이식 후 1개월 이내에 시행된 키메리즘 분석에서 완전 키메리즘을 보였으나, 1례(Case 5)는 이식 후 골수도말검사와 키메리즘 검사를 시행하지 못하고 7일 만에 사망하였다. 사망자 3례에서 사망 전 마지막 키메리즘 분석의 수여자 키메리즘은 13.0 % (12.99~87.68 %) 이상이었으며, 골수도말검사는 림프모세포가 14.4 % (14.4~93.6 %) 이상이었다.

### 3.4.3 골수형성이상증후군

총 2명으로 모두 남자였으며, 평균 연령은 39.5 (24~55)세이었다. 첫 진단일로부터 이식까지의 평균기간은 5.1 (3.7~6.4)개월이었다. 이식 후 완전 키메리즘 상태를 유지하다 혼합 키메리즘이 관찰되는 기간은 평균 20.8 (0.7~40.7)개월이었다. 혼합 키메리즘이 관찰된 이후 사망까지 기간은 생존자 1명을 제외하고는 3.5개월이었으며, 이식 후 사망까지 기간은 4.2개월이었다(Table 5).

이식 후 첫 STR 검사는 21일 후에 시행되었다. 1례 (Case 2)는 이식 후 1개월 이내에 시행된 키메리즘 분석에서 완전 키메리즘을 보였고, 마지막 키메리즘 결과로

수여자 키메리즘이 68.93 %로 관찰되었지만 추적 관찰 종료 기간까지 생존하였다. 하지만 나머지 1례(Case 1)는 이식 후 첫 키메리즘 분석에서 72.45 %의 혼합 키메리즘을 보인 이후에는 키메리즘 검사가 시행되지 않았으며, 이식 후 129일 만에 사망하였다.

Table 5. Characteristics of MDS patients.

Case	Gender	Age	Duration (days)		
			1st Dx ~ HSCT	HSCT ~ MC	HSCT ~ death
1	M	55	196	21	129
2	M	24	112	1,219	-
Mean ±SD		39.5 ±21.9	154.0 ±59.4	620.0 ±847.1	129

Dx: Diagnosis, HSCT: hematopoietic stem cell transplantation, MC: mixed chimerism.

### 3.4.4 재생불량빈혈

총 2명으로 55세 남자 1명, 47세 여자 1명이었다. 첫 진단일로부터 이식까지의 기간은 5.8 (4.3~7.3)개월이었다(Table 6).

Table 6. Characteristics of AA patients.

Case	Gender	Age	Duration (days)		
			1st Dx ~ HSCT	HSCT ~ MC	HSCT ~ death
1	F	47	131	319	-
2	M	55	224	1,219	137
Mean ±SD		51.0 ±5.7	177.5 ±65.8	769.0 ±636.4	137

Dx: Diagnosis, HSCT: hematopoietic stem cell transplantation, MC: mixed chimerism.

이 중 1례(Case 1)는 이식 후 24일 만에 시행된 STR 검사에서 완전 키메리즘을 보였으나 188일 만에 평균 수여자 키메리즘이 10.72 %로 증가하였다. 이후 30 % 이상의 혼합 키메리즘을 유지하였으며, 마지막 키메리즘 분석에서 15.66 %였고 관찰 종료시점까지 생존하였다. 반면 1례(Case 2)는 1차 이식 후 4.25 %의 완전 키메리즘을 보였으나 56일 뒤 평균 수여자 키메리즘이 100 %로 관찰되어 59일 후 2차 이식을 하였지만 익일 사망하였다.

### 3.4.5 진단 분류에 따른 특성의 관련성

혼합 키메리즘 군에서 급성골수백혈병, 급성림프모구

백혈병, 골수형성이상증후군, 재생불량빈혈로 진단별로 분류하고 연령( $P = 0.56$ ), 성별( $P = 0.91$ ), 사망률( $P = 0.74$ ), 첫 진단부터 조혈모세포 이식까지의 기간( $P = 0.84$ ), 이식 후 혼합 키메리즘 출현 또는 골수도말검사에서의 재발까지의 기간( $P = 0.94$ ), 이식 후 혼합 키메리즘의 출현부터 사망까지의 기간( $P = 0.25$ ), 이식부터 사망까지의 기간( $P = 0.16$ )을 비교 분석하였으나 진단 분류별로 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

## 4. 고찰

STR marker를 이용한 키메리즘 분석은 유전자 좌위의 다형성이 매우 높아 조혈모세포 이식 후 생착 판정 및 친자감별, 법의학적 분야 등에서 개인 식별에 중요한 방법이다. 특히 혈액 암을 포함한 다양한 혈액 질환에서 수여자의 말초혈액 또는 골수 검체로 STR을 분석하는 것은 동종 조혈모세포 이식 후 시간 경과에 따른 생착 여부를 확인하는 필수적인 진단법으로 이용되고 있다.

동종 조혈모세포 이식을 시행한 환자들은 자가 조혈모세포 이식을 시행한 환자들보다 재발률이 낮다고 알려져 있으나[8], 조혈모세포 이식 후 재발이 시작되면 진행 속도가 매우 빠르기 때문에 이식 후 생착 여부 확인뿐만 아니라 혈액 질환의 재발이나 이식편대숙주병과 같은 이식 거부 반응을 조기에 예측하는데 STR marker를 이용한 혼합 키메리즘의 관찰은 중요하다[9-14]. 하지만 급성백혈병 등에서 조혈모세포 이식 후 조혈세포의 개인적인 차이로 인해 혼합 키메리즘과 재발은 상관관계가 없었다는 보고도 있었다[15].

조혈모세포 이식에는 이식 전 골수를 파괴시키는 항암제 혹은 방사선조사를 시행하여 환자의 백혈병 세포를 제거하고 새로 이식된 조혈모세포를 생착시키기 위한 전처치가 필요하다[16]. 본 연구에서도 급성골수백혈병, 급성림프모구백혈병에서 첫 골수도말검사 결과로 골수모세포와 림프모세포의 비율이 각각 15.6 %와 77.3 % 이상이었으나 조혈모세포 이식 전처치로 그 비율이 각각 1.6 %와 2.4 % 미만으로 낮아졌으며, 그 후 동종 조혈모세포 이식을 시행하고 골수검사와 키메리즘 분석으로 추이를 관찰하였다.

동종 조혈모세포 이식 후 혼합 키메리즘의 관찰은 이식 직후부터 나타나며, 이식 후 2일에서 8일 사이에 완전 키메리즘으로 전환된다고 한다[17]. 본 연구에서는 이식 후 평균 21일에 첫 키메리즘 분석과 골수도말검사를 시

행하여 생착 여부를 판정하였다. 조혈모세포 이식 후 3주 뒤 키메리즘 검사에서 혼합 키메리즘 군의 87.5 % (21/24)가 생착이 완료되어 정상적인 골수 내 모세포 비율과 완전 키메리즘을 나타냈다. 반면 급성골수백혈병 1례에서 21일 뒤 키메리즘 검사에서 환자 유래의 세포 비율이 74.06 %였으며, 골수형성이상증후군 1례에서도 이식 후 21일에 72.45 %로 혼합 키메리즘을 보였다. 또한 급성림프모구백혈병 1례에서는 이식 후 7일 만에 사망하여 키메리즘 검사를 시행하지 못하였다. Cheong [17]과 본 연구를 종합해볼 때 이식 후 3주 후에 골수도말검사와 키메리즘 분석을 시행하여 생착 여부를 판정하기 보다는 보다 이른 시점에 검사할 필요성이 요구되며, 이식 직후 혼합 키메리즘에서 완전 키메리즘으로 바뀌는 상태를 관찰하고 이식편의 생착 실패를 조기에 발견하도록 이식 후 3주보다 기간을 줄여 검사할 필요가 있을 것으로 사료된다.

Formankova 등[18]은 급성백혈병의 재발은 일반적으로 만성백혈병에 비해 짧은 시간 내에 발생하며, 혼합 키메리즘을 보이는 환자는 더 짧은 간격으로 검사를 시행하는 것이 필요하다고 보고하였다. 또한 Bader 등[19]도 악성 질환인 급성골수백혈병, 급성림프모구백혈병은 이식 후 200일까지, 그 이후 2년까지는 매월 검사가 필요하며, 비악성 질환인 재생불량빈혈은 완전 키메리즘이 될 때까지 매주, 완전 키메리즘이 관찰된 이후는 2년까지 매 2개월마다 STR marker를 이용한 키메리즘 검사가 필요하다고 보고하였다. 반면 이식 후 1, 3, 6, 12개월 간격으로 키메리즘 검사를 시행하고 완전 키메리즘에 도달하면 환자의 임상소견에 변화가 관찰되지 않는 한 키메리즘 검사를 반복할 필요가 없다는 보고도 있었다 [20]. 본 연구에서 혼합 키메리즘을 보인 24례 중 급성골수백혈병 2례에서 완전 키메리즘 상태를 유지하다 사망하였다. 2례 모두 완전 키메리즘이 유지될 때 골수도말검사는 시행되지 않았으며, 첫 번째 혼합 키메리즘이 발견된 이후 약 1주일 간격으로 키메리즘 검사를 시행하였으나 마지막 검사에서 완전 키메리즘이 나온 이후 사망일까지 평균 55일까지는 검사가 시행되지 않아 이후의 키메리즘 상태를 알 수 없었다. 또한 급성골수백혈병 1례는 이식 후 2년 7개월 간 완전 키메리즘을 유지하였으나 첫 혼합 키메리즘으로 8.75 %를 나타내었고 1주일 만에 78.24 %까지 상승되는 결과를 보였다. 혼합 키메리즘 군에서 87.5 % (21/24)가 이식 직후에는 완전 키메리즘 상태를 보였으나, 점차적으로 골수도말검사의 모세포 비율과 키메리즘 분석에서 수여자 키메리즘 정도가

증가하다 사망한 경우가 70.8 % (17/24)이었다. 본 연구에서 혼합 키메리즘 군은 이식부터 재발까지 평균 11.6개월, 재발에서 사망까지 평균 2.7개월이었다. 본 연구결과와 Formankova 등[18], Bader 등[19]의 결과를 고려해 볼 때 완전관해의 골수도말검사 결과와 완전 키메리즘이 유지된다 하더라도 혼합 키메리즘이 1회라도 관찰된 환자는 최소 1년 이상 반복적인 골수검사와 키메리즘 분석을 시행해야 하며, 질환이 완전히 재발하기 전에 검사하여 적절한 시기에 치료를 시작할 수 있는 근거를 만들고 환자의 치료성적을 향상시킬 필요가 있을 것으로 사료된다.

동종 조혈모세포 이식 후 관찰되는 혼합 키메리즘의 임상적 중요성에 대해서는 아직 논란의 여지가 있지만 완전 키메리즘에 도달한 후 환자 유래의 세포 증가가 관찰되어 혼합 키메리즘으로 전환될 경우 질병의 재발을 의미한다[21]. 본 연구에서도 추적기간 마지막까지 완전 키메리즘을 유지한 완전 키메리즘 군에서는 재발된 경우가 없었지만 완전 키메리즘을 보이다 혼합 키메리즘이 관찰된 24례 중 9례가 재발하였다. 혼합 키메리즘을 보인 환자 중 70.8 % (17/24)가 사망하였으며, 완전 키메리즘 군에서 추적기간 내내 혼합 키메리즘으로 전환되지 않고 완전 키메리즘을 유지한 환자 중에서도 15.8 % (19/120)가 사망하였다.

STR marker를 이용한 키메리즘 분석에 사용되는 검체는 말초혈액이나 골수 내의 전체 백혈구가 사용된다. 전체 백혈구로 STR marker 검사 시 1~5 %의 다형성 분석 민감도를 갖고 있으며, 이 수준의 민감도는 조혈모세포 이식 후 이식편대숙주병 및 조기 재발을 찾아내는데 불충분한 수치일 수 있다[7]. 이러한 문제를 해결하기 위해 유세포 분석으로 백혈구를 세포 계열별로 나누어 키메리즘을 분석하면 민감도가 0.1-0.01 %로 높아진다는 보고가 있었으며[7], Goh 등[22]은 동종 조혈모세포 이식 후 유핵세포, T 세포, NK 세포로 구분하여 분석한 결과 세포 분획별로 상이한 결과를 보였음을 보고하였다. 본 연구에서 완전 키메리즘 군의 골수도말검사는 조사가 이루어지지 않았지만 혼합 키메리즘이 나타나지 않고 완전 키메리즘을 유지하다 사망한 경우는 조기 생착 판정 검사에서 소량 존재하는 환자의 악성 세포를 검출하지 못하여 환자의 적절한 치료시기를 놓쳐 사망했을 가능성이 있을 것으로 사료된다.

결론적으로, 완전 키메리즘 군에서 재발이 발견되지 않았으며, 혼합 키메리즘 군에서 재발율과 사망률이 높았다. 하지만, 완전 키메리즘이 유지되더라도 재발하여

사망할 가능성이 있으므로 STR marker를 이용한 키메리즘 분석 외에도 골수도말검사, 분자유전검사, 유세포 분석 등의 검사를 짧은 간격으로 시행하여 환자 질병 상태 변화의 관찰이 필요할 것이다. 또한, 혼합 키메리즘 군에서 재발한 환자를 대상으로 급성골수백혈병과 급성 림프모구백혈병에서 이식 후의 키메리즘 분석 결과와 골수도말검사를 비교 분석하였다. 골수도말검사의 형태학적인 재발 소견 보다 STR marker를 이용한 키메리즘 검사가 조기 재발 확인과 이식 후 생착 판정에 더 유용할 것으로 예상하여 조사 분석하였으나, 조혈모세포 이식 후 골수도말검사를 미실시한 경우와 재발 소견이 관찰되지 않은 경우를 제외한 77.7 % (7/9)에서 골수도말검사의 모세포 비율이 키메리즘 분석의 평균 수여자 키메리즘보다 높게 관찰되었다. 즉, 키메리즘 분석보다 혈액학적인 골수도말검사서 재발 소견이 선행하였음을 알 수 있었다.

STR marker를 이용한 키메리즘 검사는 골수도말검사의 재발 소견보다 선행하진 않았으나 골수를 채취하는 침습적인 골수도말검사에 비해 말초혈액으로도 검사가 가능하여 검체 채취가 용이하며, 비교적 덜 침습적이고 환자의 통증에 대한 부담이 적으므로 유용한 검사라 판단되었다.

## References

- [1] Kim JA, "Special Review: New therapeutic modalities on hematopoietic stem cell transplantation", *Korea J Med*, Vol.78, No.5, pp.552-556, 2010.
- [2] Van Deerlin VM, Leonard DG, "Bone marrow engraftment analysis after allogeneic bone marrow transplantation", *Clin Lab Med*, Vol.20, No.1, pp.197-225, 2000.
- [3] Khan F, Agarwal A, Agrawal S, "Significance of chimerism in hematopoietic stem cell transplantation: new variations on an old theme", *Bone Marrow Transplant*, Vol.34, No.1, pp.1-12, 2004.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1704525>
- [4] Ugozzoli L, Yam P, Petz LD, et al, "Amplification by the polymerase chain reaction of hypervariable regions of the human genome for evaluation of chimerism after bone marrow transplantation", *Blood*, Vol.77, No.7, pp.1607-1615, 1991.
- [5] Indolia K, Janakiraman N, Kasten-Sportes C, et al. "Enhanced assessment of allogeneic bone marrow transplant engraftment using automated fluorescent-based typing", *Bone Marrow Transplant*, Vol.24, No.11, pp.1235-1241, 1999.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1702061>
- [6] Seoul Asan Hospital, STR-PCR, Available From: <http://amccp.amc.seoul.kr/asan/depts/amccp/K/bbsDetail.do?menuId=517&pageIndex=10&searchCondition=&searchKeyword=str&contentId=111608>
- [7] Huh HJ, Huh JW, Kang ES, et al, "Clinical significance of mixed chimerism after hematopoietic stem cell transplantation", *Korea J Lab Med*, Vol.22, No.6, pp.441-446, 2002.
- [8] Lee JH. "Treatment of Relapse after Hematopoietic stem cell transplantation in acute leukemia", *Korea J bmt* Vol.7, No.1, pp.8-12, 2002.
- [9] Mapara MY, Kim YM, Marx J, et al, "Donor lymphocyte infusion-mediated graft-versus-leukemia effects in mixed chimeras established with a nonmyeloablative conditioning regimen: extinction of graft-versus-leukemia effects after conversion to full donor chimerism", *Transplantation* Vol.76, No.2, pp.297-305, 2003.  
DOI:<https://doi.org/10.1097/01.TP.0000072014.83469.2D>
- [10] Bader P, Hancock J, Kreyenberg H, et al, "Minimal residual disease (MRD) status prior to allogeneic stem cell transplantation is a powerful predictor for post-transplant outcome in children with ALL", *Leukemia*, Vol.16, pp.1668-1672, 2002.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402552>
- [11] Au WY, Chan EC, Lie AK, et al, "Poor engraftment after allogeneic bone marrow transplantation: role of chimerism analysis in treatment and outcome", *Ann Hematol*, Vol.82, pp.410-415, 2003.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00277-003-0676-3>
- [12] Sparkes MC, Crist ML, Sparkes RS, et al, "Gene markers in human bone marrow transplantation". *Vox Sang*, Vol.33, No.4, pp.202-205, 1977.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.1977.tb04464.x>
- [13] Gomez JR, Garcia MJ, Serrano J, et al, "Chimerism analysis in long-term survivor patients after bone marrow transplantation for severe aplastic anemia", *Haematologica*, Vol.82, No.5, pp.588-591, 1997.
- [14] Andreani M, Manna M, Lucarelli G, et al, "Persistence of mixed chimerism in patients transplanted for the treatment of thalassemia", *Blood*, Vol.87, No.8, pp.3494-3499, 1996.
- [15] Schaap N, Schattenberg A, Mensink E, et al. "Long-term follow-up of persisting mixed chimerism after partially T cell-depleted allogeneic stem cell transplantation", *Leukemia*, Vol.16, pp.13-21, 2002.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402343>
- [16] Heinzelmann F, Ottinger H, Muller CH, et al, "Total-body irradiation-role and indications: results from the German registry for stem cell transplantation (DRST)", *Strahlenther Onkol* Vol.182, No.4, pp.222-2230, 2006.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00066-006-1468-1>
- [17] Cheong JW. *Variable number of tandem repeat-polymerase*



chain reaction(VNTR-PCR) for engraftment evaluation in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, Yonsei University, Seoul, Korea, pp.24, 2001.

- [18] Formankova R, Honzatkova L, Sieglova Z, et al, "Detailed monitoring of hematopoietic chimerism in a child treated by adoptive immunotherapy for high risk of relapse after BMT for acute myeloid leukemia" *Bone Marrow Transplant* Vol.25, pp.453-456, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1702146>
- [19] Bader P, Niethammer D, Willasch A, et al, "How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation?", *Bone Marrow Transplant*, Vol.35, No.2, pp.107-119, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1704715>
- [20] Han JY, Lee YH, Kwon HC, et al, "Evaluation of chimerism after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation by multiplex PCR of 16 short tandem repeat (STR) Loci", *Korea J Lab Med*, Vol.24, No.4, pp.261-266, 2004.
- [21] Thiede C, Bornhauser M, Oelschlagel U, et al, "Sequential monitoring of chimerism and detection of minimal residual disease after allogeneic blood stem cell transplantation (BSCT) using multiplex PCR amplification of short tandem repeat-markers" *Leukemia* Vol.15, No.2, pp.293-302, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401953>
- [22] Goh RY, Cho SS, Song YJ, et al, "Clinical utility of chimerism status assessed by lineage-specific short tandem repeat analysis: experience from four cases of allogeneic stem cell transplantation", *Kore J Lab med*, Vol.29, No.3, pp.277-281, 2009.

이 난 영(Nan Young Lee)

[정회원]



- 1995년 2월 : 경북대학교 의과대학 학사
- 2003년 2월 : 경북대학교 의과대학 석사
- 2006년 2월 : 경북대학교 의과대학 박사
- 2020년 3월 ~ 현재 : 경북대학교 의과대학 임상병리학교실 기금교수

<관심분야>

분자유전학, 임상미생물학

박 준 철(Joon Cheol Park)

[정회원]



- 1995년 2월 : 경북대학교 의과대학 학사
- 1999년 2월 : 경북대학교 의과대학 석사
- 2004년 2월 : 경북대학교 의과대학 박사
- 2002년 3월 ~ 현재 : 계명대학교 동산병원 산부인과 교수

<관심분야>

산부인과, 생식내분비

홍 하 늘(Ha Neul Hong)

[정회원]



- 2015년 2월 : 대구보건대학교 임상병리학 학사
- 2022년 2월 : 경북대학교 수사과학대학원 과학수사학과 석사
- 2015년 1월 ~ 현재 : 칠곡경북대학교병원 진단검사의학과 임상병리사

<관심분야>

진단분자유전학, 수사과학