AUTOMATED HEMATOLOGY ANALYZER

sysmex

XE-2100

Creating New Value in Hematology Testing

Diagnostics NETWORKING

Networking Diagnostics

- The XE-2100 has the ability to integrate into a computer network system.
- A new QC service and support system through the SYSMEX computer network.

New Diagnostic Information

- The XE-2100 offers precise NRBC detection for improved clinical diagnostic information. The reliable NRBC improves WBC count and WBC differential accuracy.
- By the use of both impedance and optical methods for platelets, the XE-2100 provides a highly reliable platelet count.
- New parameters include: NRBC, IRF(immature reticulocyte fraction), HPC*(Hematopoietic progenitor cells)

** In some areas, this parameter may be used for research or investigational purpose only.*

System Expandability

- Expendable to the XE-2100 Twin System(2 analysis modules with 1 information processing unit), XE-Alpha(XE-2100 with slide preparation and staining), and HST series(Full featured transportation system).

Features to Increase Laboratory Productivity

- Fast throughput(up to 150 samples per hours).
- Laser flow cytometry.
- Random access discrete modes.
- Uses friendly data management with Windows NT system.

TÜV CERT DIN EN ISO 9001:/IS 2 9001 DIN EN 46001, ISO 13485 Certificate: 09 105 89004 — ISO 9001 Certified

TÜV Anlagentechnik GmbH ISO 14001 ,JIS Q 14001 — ISO 14001 Certified

Sysmex Corporation obtained ISO 9001, EN 46001, ISO 13485 and ISO 14001 Certifications.

FUTURISTIC PULSE

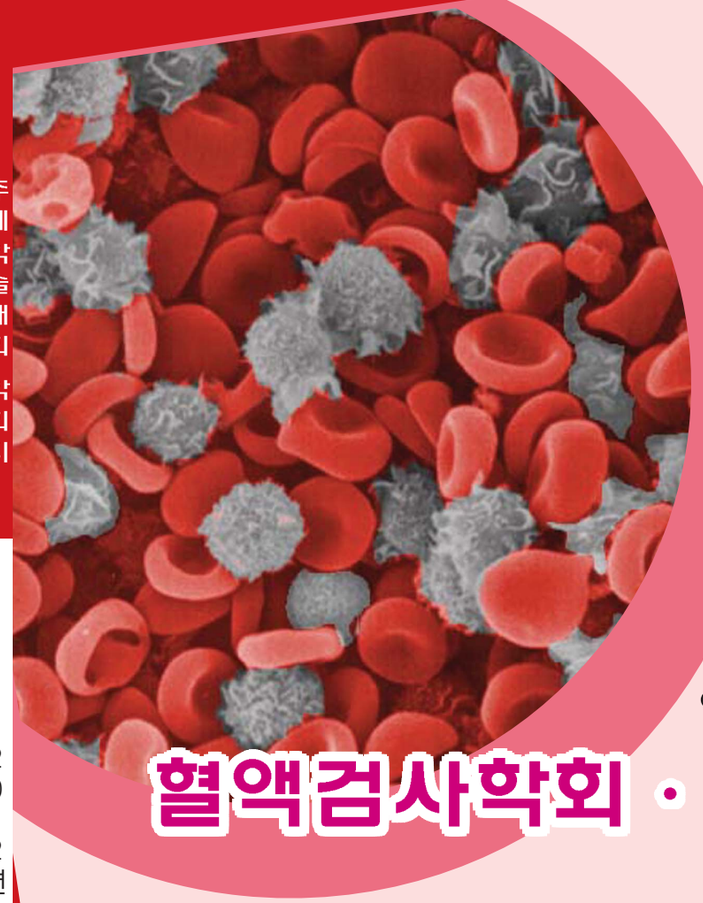
DK 동강메디피아(주) Dong Kang Medipia Co.,Ltd.

서울시 서초구 우면동 66번지 (DK빌딩 4~6층) Tel.02-3498-5300 / Fax.02-3498-5312

추계학술대회 학회지

2012년

혈액검사학회 · 수혈검사학회



KSMT THE KOREAN ASSOCIATION OF MEDICAL TECHNOLOGISTS

2012년
연합 추계학술대회 학회지

혈액검사학회 · 수혈검사학회

· 일시 : 2012년 11월 3일 (토) 13:00~18:00

· 장소 : 건국대학교병원 대강당

혈액검사학회 · 수혈검사학회

LEADING SPECIALIST IN TRANSFUSION MEDICINE

HELMER

- BloodBank Refrigerator
- Plasma Freezer
- Platelet Storage System
- Plasma Thawing System
- Cell Washing System

ASHLAND

- Dosimetry System
- Blood Irradiation Indicators

GSM

- Blood Irradiator (BioBeamGM)

DIAMED/BIORAD

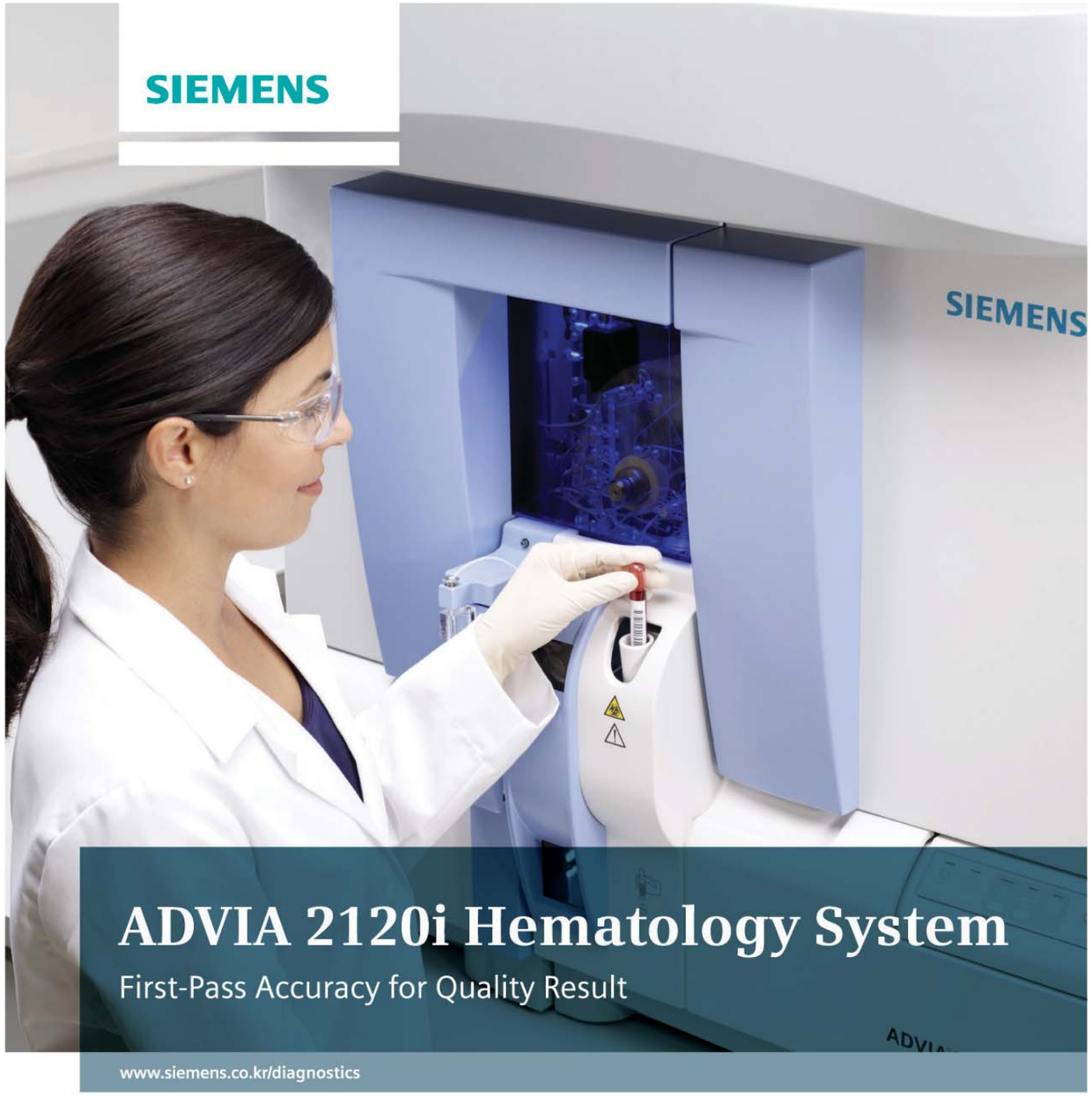
- IH1000-Automated Immunohematology System

HETTICH

- BloodBank Serofuge
- Microliter Centrifuge
- Benchtop Centrifuge
- Floorstanding Centrifuge

IRR 미르싸이텍(주) MIRRSCITECHCORP.

www.mirrscitech.co.kr
e-mail : sale@mirrscitech.co.kr
TEL : (02) 588-8733 FAX : (02) 588-8732



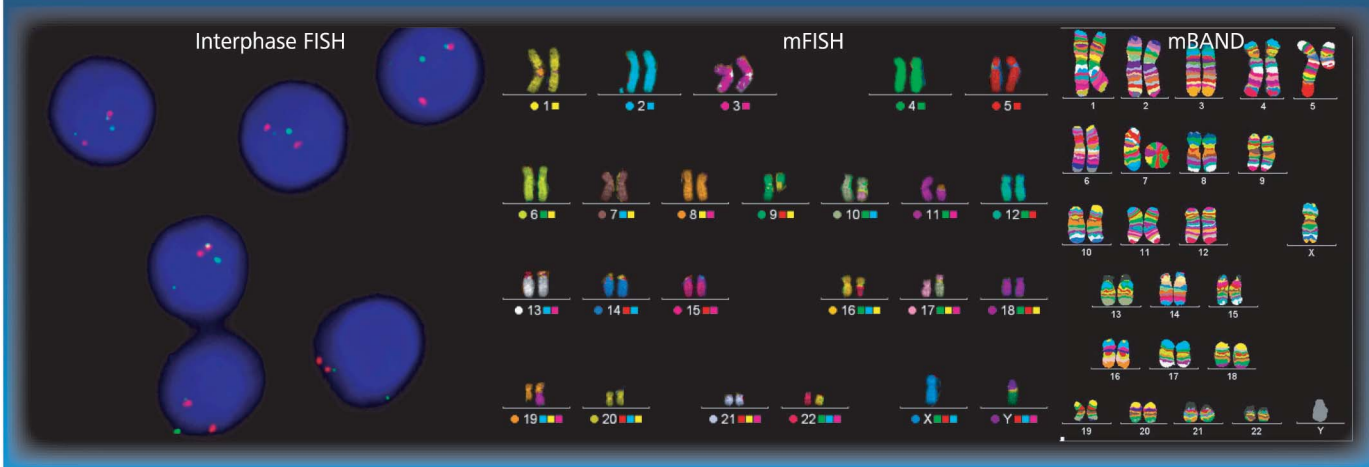
- Fewer reruns
- Lowest Overall review rate
- Faster turnaround time
- Superior linearity

- State-of-the-art-technology
  - RBC
  - PLT
  - Automated Reticulocyte
  - CSF & Body Fluid

Answers for life.

Siemens Ltd. Seoul Technical Solution Center 080-450-1234 대표전화 02-3450-7880

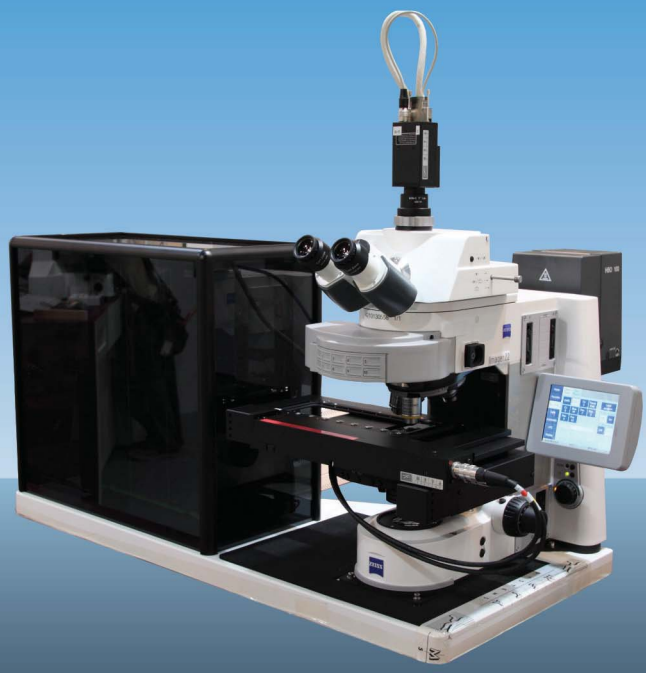
Carl Zeiss와 MetaSystems가 Cytogenetics의 토탈 솔루션을 제공합니다.



Hardware
- Axio Imager : Carl Zeiss Upright Microscope
- High resolution CCD camera

Software
- Ikaros : Automatic Karyotyping system
- Isis : FISH imaging
- Metafer : Automated Scanning Platform

FISH DNA Probe Kits
- Metaphase FISH DNA probe kits
- Interphase FISH DNA probe kits
  : High sensitivity
  : Low background
  : Maximized convenience



Automated Cytogenetic Analysis System with Carl Zeiss Microscope

Carl Zeiss Korea
Microscopy Division

Tel 02 3140 2600
Fax 02 3140 2699
Email mickorea@zeiss.co.kr
http://www.zeiss.co.kr/microscopy

ZEISS

We make it visible.

Automated Tube Labeling and Transfer System

GNT series

GNT 7
600 Tubes
Stand-Alone Model
Connect to Medic Work Tables

GNT 5
400 Tubes
Stand-Alone Model
Connect to Medic Work Tables

GNT 3
400 Tubes
Bench-Top Model

GNT is...

- GNT automatically attaches a label which describes a patient's information to a sample tube, then transfer the labeled sample tube to a person in charge of blood sampling.
- GNT helps to reduce patient waiting time and to prevent barcode attachment error. The hospital workers are available to build the database for blood sampling by using barcode and easy to create the user interface for OCS/EMR.
- The System optimizes the efficiency of Blood Sampling Work and Hospital Services.

Advantages of GNT system are...

- Possible to use various vacuum tubes
- Comfortable one touch drawer system
- Just remove the plasic wrapping and put tube rack in drawer (No additional works)
- User-defined barcode configuration
- Managing of statistics for sample registration

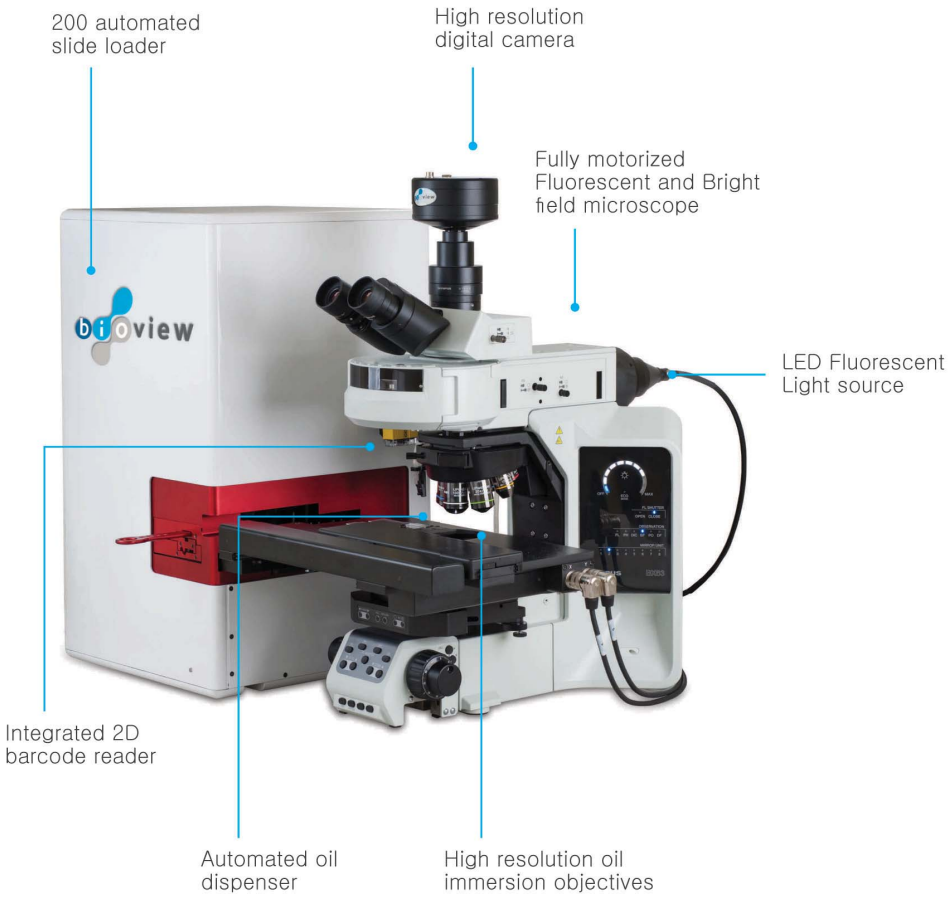
DONG-A PHARM.
서울특별시 동대문구 용두동 252 / TEL.(02)217-7201~7209
http://www.donga.co.kr/diagnostics

BioView

Automated Imaging and Analysis Systems

BioView scanning system is intended for in-vitro diagnostics use as an aiding tool for the pathologist in the detection, classification and counting of cells of interest based on color, intensity, size, pattern and shape.

BioView Hematology, Bladder, Breast and Pre-Natal applications are for an aid in diagnosis. All other applications are for research* use only.



다우바이오메디카

서울시송파구오금동115-2, 세종빌딩4층
TEL 02-2201-3602~3 FAX 02-2201-2166

DOW SNS Information

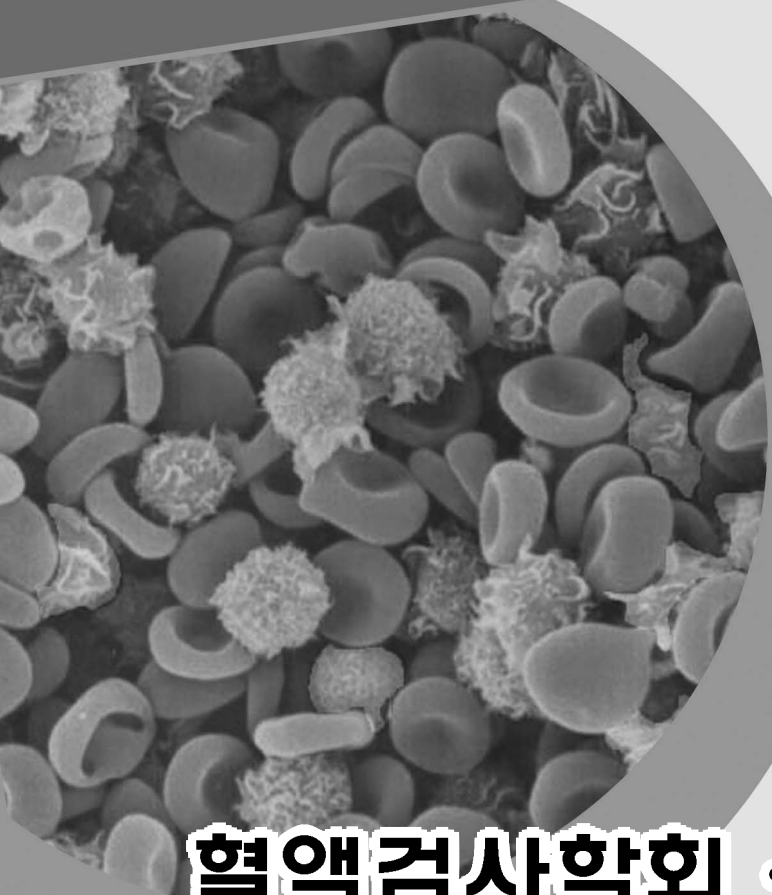
- Homepage - www.dowbiomedica.co.kr
- Blog - http://blog.naver.com/dowbiomedica
- Facebook - http://www.facebook.com/DOWBiomedica

bioview
Viewing a Better Future for You

GREEN CROSS MEDICAL SCIENCE는

녹십자 내에서 체외진단사업(IVD)과 의료, 건강에 관련된 Medical Device 사업영역을 관장하는 녹십자의 자회사로 모기업의 사업이념인 'Total Health Care Provider'를 추구하기 위해 설립되었습니다.

녹십자 GREEN CROSS 주식회사 녹십자MS



2012년
연합 추계학술대회 학회지

혈액검사학회 · 수혈검사학회

· 일시 : 2012년 11월 3일 (토) 13:00～18:00
· 장소 : 건국대학교병원 대강당

혈액검사학회 · 수혈검사학회

2012년도 혈액검사학회 · 수혈검사학회 연합 추계학술대회 일정표

일시 : 2012년 11월 3일(토) 13:30~17:40
장소 : 건국대학교병원 대강당

시 간	순 서	좌장
13:30 ~ 14:00	개회식 행사	-
14:00 ~ 14:30	구 연-1 (유전)	심문정 교수
14:30 ~ 14:45	구 연-2 (수혈)	최범열 고문
14:45 ~ 15:30	특 강-1 (수혈)	김동찬 학회장
15:30 ~ 15:50	Coffee break	-
15:50 ~ 16:20	특 강-2 (면허재신고 등)	이귀순 학회장
16:20 ~ 17:00	특 강-3 (혈액)	함천경 고문
17:00 ~ 17:30	구 연-3 (혈액)	변대훈 고문
17:30 ~ 17:40	폐회 및 기념촬영	

학 술 발 표 안 내

구연발표 I (유전)

좌장 : 심문정 교수

FISH검사 전처리 자동화 장비 XmatrxTM와 수기법의 비교 평가
..... 세브란스병원 진단검사의학과 / 강지연 · 안미숙 · 최종락

Leukemia 환자에서 Acute leukemia profile test (Hemavision®)의 유용성
..... 서울아산병원 진단검사의학과 / 김지현 · 권미량 · 최미옥 · 지현숙

구연발표 II (수혈)

좌장 : 최범열 고문

Passenger Lymphocyte Syndrome ..... 서울 아산병원 혈액은행 / 양성식

특 강 I (수혈)

좌장 : 김동찬 학회장

수혈의학의 현재와 미래 ..... 서울의대 검사의학교실, 분당서울대병원 진단검사의학과 / 박경운

특 강 II (면허재신고 등)

좌장 : 이귀순 학회장

2014년 면허재신고제 실시에 따른 임상병리사평가원 기획 및 보수교육규정 개정(안)
..... 사단법인 대한임상병리사협회 총무이사 / 이상호

특 강 III (혈액)

좌장 : 함천경 고문

체액 세포검사 ..... 울산의대 서울아산병원 / 장성수

구연발표 III (혈액)

좌장 : 변대훈 고문

PFA-100의 Error Message(A,B,C,D,E)의 적합성과 동시 장착된 A & B position 검사결과 비교 연구
..... 고려대학교 안산병원 진단검사의학과 / 박지혜 · 박만근 · 안은주 · 이현아

6-color판넬을 이용한 형질세포암의 유세포 분석
..... 세브란스병원 진단검사의학과 / 류희정 · 양미숙 · 김경숙 · 김수정

목 차

논 문

1. 제대혈 무게에 따른 전혈구 수(complete blood count) 참고치
메디포스트(주) 생명공학연구소 / 김희정 · 홍혜경 · 오원일 ····· 3

2. 한국의 제대혈 이식과 보관 : 11년간의 기증 제대혈은행 운영 현황
메디포스트(주) 생명공학연구소 / 양정윤 · 최기훈 · 김희정 · 임소진 · 홍혜경 · 오원일 ····· 10

3. 냉동 보관된 제대혈 조혈모세포의 냉동 전과 해동 후의 보관 기간별 검사 결과 분석
메디포스트(주) 생명공학연구소 / 임소진 · 김희정 · 양정윤 · 홍혜경 · 오원일 ····· 19

구연발표 I (유전)

1. FISH검사 전처리 자동화 장비 XmatrxTM와 수기법의 비교 평가
세브란스병원 진단검사의학과 / 강지연 · 안미숙 · 최종락 ····· 29

2. Leukemia 환자에서 Acute leukemia profile test (Hemavision®)의 유용성
서울아산병원 진단검사의학과 / 김지현 · 권미량 · 최미옥 · 지현숙 ····· 30

구연발표 II (수혈)

3. Passenger Lymphocyte Syndrome
서울 아산병원 혈액은행 / 양성식 ····· 33

특 강 I (수혈)

1. 수혈의학의 현재와 미래
서울의대 검사의학교실, 분당서울대병원 진단검사의학과 / 박경운 ····· 37

특 강 II (면허재신고 등)

2. 2014년 면허재신고제 실시에 따른 임상병리사평가원 기획 및 보수교육규정 개정(안)
사단법인 대한임상병리사협회 총무이사 / 이상호 ····· 51

특 강 III (혈액)

3. 체액 세포검사
울산의대 서울아산병원 / 장성수 ····· 55

구연발표Ⅲ(혈액)

4. PFA-100의 Error Message(A,B,C,D,E)의 적합성과 동시 장착된 A&B position 검사결과 비교 연구
고려대학교 안산병원 진단검사의학과 / 박지혜 · 박만근 · 안은주 · 이현아 ····· 59

5. 6-color판넬을 이용한 형질세포암의 유세포 분석
세브란스병원 진단검사의학과 / 류희정 · 양미숙 · 김경숙 · 김수정 ····· 61

포스터 (유전)

1. HLA-B51 유전자 검사의 양성율 조사와 고찰
삼광의료재단 / 윤은희 ····· 65

2. IUGR(자궁 내 성장지연)로 의뢰된 염색체 검사 결과에 대한 분석 및 고찰
삼광의료재단 세포유전검사팀 / 김인경 · 정안나 · 석윤미 ····· 66

3. 고령 산모의 양수 염색체 검사 결과에 대한 유형 분석
삼광의료재단 세포유전검사팀 / 김인경 · 정안나 · 석윤미 ····· 67

4. Premature ovarian failure 환자의 염색체 핵형분석 1예
의료법인 삼광의료재단 / 권지현 ····· 68

5. sSMC가 발견된 양수 검체의 부모 혈액 염색체 결과 분석
의료법인 삼광의료재단 / 권지현 ····· 69

6. 산모들의 MTHFR C677T 유전자 단일염기 다형성의 빈도
의료법인 삼광의료재단 / 진한울 ····· 70

7. 자연유산으로 의뢰된 수태산물 염색체 검사결과의 유형
삼광의료재단 세포유전검사팀 / 권윤정 ····· 71

8. Patau, Edward, Down Syndrome에서의 산모의 나이 유형
삼광의료재단 세포유전검사팀 / 권윤정 ····· 72

9. 혈액 종양에서 관찰되는 Y 염색체 소실
삼광의료재단 세포유전검사팀 / 권윤정 ····· 73

10. 조기폐경 의심 환자의 핵형 결과 46,X,idic(X)(q27) 1례
삼광의료재단 세포유전 검사팀 / 김진현 ····· 74

11. PCR & Sequencing 법을 이용한 글리벡 내성 유전자 변이 통계 조사
녹십자 의료재단 / 방성희 · 전희선 · 김윤경 · 조은해 ····· 75

12. BCR-ABL IS 정량검사 소개
의료법인 녹십자의료재단 인간유전체팀 / 전희선 ····· 76

13. 습관성유산 환자의 증가 추세와 염색체이상의 분포
삼광의료재단 / 박영주 ····· 77

14. 양수 검체 상태에 따른 검사 소요일
삼광의료재단 / 박영주 ····· 78

15. marker chromosome의 기원을 알아본 증례 보고 (2예)
삼광의료재단 / 박영주 ····· 79

16. 선천성 난청을 유발하는 GJB2 유전자 돌연변이 빈도
의료법인 삼광의료재단 / 이연주 ····· 80

17. 혈액 질환별 염색체 핵형분석과 임상적 의의
네오딘의학연구소 유전체연구센터 / 임경옥 · 송지원 · 이현정 · 최수현 · 한재이 · 신은심 ···· 81

18. Jacobsen syndrome을 보이는 환자의 핵형 분석과 임상적 특징 고찰
서울아산병원 / 권은미 ····· 82

19. Imatinib에 저항성이 있는 유전자 변이의 빈도
서울아산병원 / 권미량 · 최미옥 · 박상혁 · 조영욱 · 지현숙 ····· 83

20. 18p deletion 증후군에 관한 증례보고
서울아산병원 / 오유겸 ····· 84

21. Cytogenetic Microarray으로 확인한 15번 염색체의 Prader-willi/Angelman syndrome 1예
녹십자 의료재단 의학유전체 연구소 제2연구팀 / 김주연 · 강유선 · 조은해 ····· 85

22. Chromosomal microarray로 확진한 말초혈액의 X 염색체 단완(Xp22.31)의 STS유전자 결실
녹십자의료재단 / 백민정 · 강유선 · 조은해 ····· 86

23. Myelodysplastic syndrome 환자의 골수 chromosomal analysis와 Cytogenetic Microarray 분석결과 증례보고
녹십자의료재단 / 남옥이 · 강유선 · 조은해 ····· 87

포스터 (혈액)

1. 당화 혈색소(Hb A1c)검사의 보관 온도별 검체 안정성 검사
녹십자 의료재단 진단 검사의학부 혈액학 팀 / 유일호 ····· 88

2. 최근 3년간 Malaria 양성율 보고
녹십자의료재단 감염유전체팀 / 김은주 · 박용원 · 장자현 · 조은해 ····· 89

3. Microarray로 확인한 ALL 환자의 Bone marrow 결과 2건
녹십자의료재단 / 구선영 · 강유선 · 조은해 ····· 90

4. 검체 보관조건에 따른 Lymphocyte Subset 검체 안정성 평가
녹십자의료재단 / 이숙정 ····· 91

5. 혈액응고검사(PT, aPTT)시약 제조 시 온도 변화에 따른 결과 값의 영향
녹십자의료재단 / 김영래 ····· 92

6. 제대혈의 단핵세포 비율과 재태 연령의 상관성 분석
메디포스트(주) 생명공학연구소 / 최정미 · 양정윤 · 김희정 · 홍혜경 · 오원일 ····· 94

7. Cooling 시간에 따른 제대혈 세포 생존도의 변화 추이 관찰
메디포스트(주) 생명공학 연구소 / 유옥선 · 최기훈 · 양정윤 · 홍혜경 · 오원일 ····· 95

8. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase 측정 시 위양성 예
울산의대 서울아산병원 진단검사의학과 / 전소현 · 박정숙 · 최미옥 · 지현숙 ····· 96

9. AMC의 CBC 정도관리물질 허용범위 설정 방법 소개
서울아산병원 진단검사의학과 / 최미옥 · 김종화 · 김동제 · 박찬정 ····· 97

10. 2009년 ISTH에서 제안된 Lupus Anticoagulant(LA) 검사 방법 도입
서울아산병원 / 이명심 · 최미옥 · 장성수 · 지현숙 ····· 98

11. 국내 말라리아 PCR의 양성 추이 조사
의료법인 삼광의료재단 / 이연주 ····· 99

12. PFA-100 closure time에 영향을 미치는 요소와 유용성
인제대학교 해운대백병원 진단검사의학과 / 권형범 ····· 100

13. Mixing test를 위한 Homemade Normal Pooled Plasma의 제조 및 평가
세브란스병원 진단검사의학과 / 배가희 · 양미숙 · 김선경 · 김일 · 김수정 ····· 101

14. Stago revolution 장비를 이용한 D-dimer 정량검사의 유용성 평가
삼광의료재단 / 박홍철 ····· 102

15. Stago revolution장비를 이용한 FDP 정량검사의 유용성 평가
삼광의료재단 / 박홍철 ····· 103

포스터 (수혈)

1. 검체보관조건이 동종응집소역가에 미치는 영향
국립암센터 진단검사의학과 / 서희승 · 송윤경 · 안태규 · 김강림공선영 ····· 104

2. 항-E를 지닌 간 이식 환자에게서 추가 동정 된 항-Di^a 검출 사례
서울아산병원 혈액은행 / 김효진 ····· 105

3. 제대혈의 Hematocrit과 LRP(Leukocyte rich plasma)의 관계 분석
메디포스트㈜ 생명공학연구소 / 이선미 · 최기훈 · 양정윤 · 홍혜경 · 오원일 ····· 106

4. 단일 혈액원에서 처음 시행한 헌혈 혈액에 대한 B형 간염 핵산증폭검사 경험
한마음혈액원 / 윤형주 · 김근옥 · 안현기 · 박지훈 · 정희숙 · 황유성 ····· 107

5. NBM-200 장비를 이용한 헌혈자 헤모글로빈의 측정
연세의료원 세브란스병원 진단검사의학과 / 노연희 · 이은경 · 김신영 · 김현옥 ····· 108

6. Duffy^a(Fy^a)항원 음성 혈액 출고 증례 1예
인천적십자혈액원[1] · 중앙검사센터[2] · 가천대 중앙길병원[3] · 미8군121병원[4] /
이충영 · 송창면[1] · 김종필 · 김종훈[2] · 김한규[3] · 남필순[4] ····· 109

7. 성분채혈혈소판제제의 혈소판수(yield)에 따른 사용 실태 및 현황
한마음혈액원 제제공급팀 / 김희범 · 김자선 · 김정남 · 이정은 · 이원아 · 김종원 ····· 110

논 문

※ 혈액 (논문 1)

※ 수혈 (논문 2 ~ 3)

제대혈 무게에 따른 전혈구 수(complete blood count) 참고치

메디포스트(주) 생명공학연구소
김희정 · 홍혜경 · 오원일

Complete Blood Count Reference Values according to Weights of Cord Blood

Hee Jung Kim · Hye Kyung Hong · Won Il Oh
Biomedical Research Institute, MEDIPOST Co., Ltd., Seoul, Korea

Family cord blood banking are comprised of diverse weights of at least 40g to more than 200g. In this study, we analyzed CBC parameters of the CB to establish CBC reference values according to weight of large-scale family cord blood.

We examined using cord blood divided into three groups based on difference of cord blood weight. The results, we could not assort the reference intervals of each group because each group did not have differences of differential count of WBC and platelets. Thus, we set up the reference intervals based on analysis of three groups data. Whereas hemoglobin (Hb) and white blood cell (WBC) set up in accordance with differences of cord blood weight. The reference intervals of CBC according to weight is as in the following. Group of 40-99g : Hb, 6.8-12.3g/dL; WBC, 4.0-14.6x10^3/μL; Group of 100-139g : Hb, 9.6-13.9g/dL; WBC, 5.3-17.0x10^3/μL; Group of more than 140g : Hb 10.0-14.9g/dL; WBC 6.1-18.7x10^3/μL. Differential count of WBC (neutrophils, 32.0-71.1%; lymphocytes, 18.3-58.6%; monocytes, 3.9-10.5%; eosinophils, 1.0-6.7%; basophils, 0.4-1.9 %); platelet, 91.3-272.1x10^3/μL.

We suggest that the established CBC reference values from this study will be useful as basic data for CBC interpretation of CB in the family cord blood bank are comprised of diverse weights.

Key Words : Cord blood, Weight, Reference value, CBC

Ⅰ. 서 론

현대의학에서 최근까지 가장 과학적인 근거를 가지고 질병치료에 이용되고 있는 분야는 탯줄 속의 혈액을 이용한 제대혈 분야이다. 제대혈에 조혈모세포가 다량 포함되어 있어 임상에 적용이 가능하다는 연구결과가 처음 발표[1]된 이래로 특히 골수이식을 시행할 수 없는 백혈병 환자에 대한 새로운 치료법으로 자리를 잡았다. 여러 난치성 혈액질환이나 유전성 질환의

치료에 제대혈 이식이 성공적으로 이루어지고 있으며, 전 세계적으로 제대혈은행들이 활발하게 설립 운영되기 시작하였다[2]. 국내에서도 제대혈은행들이 활발하게 운영되고 있으며 이러한 제대혈은행의 운영형태는 두 가지로 나뉘어지는데, 비혈연간 제대혈 조혈모세포이식을 목적으로 하는 기증제대혈은행과 자가 또는 혈연간 이식을 목적으로 하는 가족제대혈은행이다.

기증제대혈과 가족제대혈의 보관 적합한 총 유핵세포수(total nucleated cells, TNC)의 기준은 다른데, 제대혈 관리 및 연구에 관한 법률 시행령 제 10조에 의하면, 기증제대혈은 보관처리 전 총 유핵세포수가 8억개 이상이고 가족제대혈의 경우, 총 유핵세포수 검사항목은 위탁자의 명시적인 동의가 있으면 적합 기준을 다르게 지정할 수 있다고 되어있어 제대혈은행마다 가족제대혈의 보관 적합한 총 유핵세포수 기준은 차이가 있다. 가족제대혈은 기증제대혈에 비해 채취량의 분포가 다양하여, 채취된 제대혈의 무게를 측정해 보면 최소 40g에서 최대 200g 이상까지의 분포를 보인다.

제대혈이 의료기관에서 채취되어 제대혈은행으로 입고가 되면 여러 검사를 거친 후 법규에서 규정한 보관 적합한 제대혈만 선별보관이 가능하게 된다.

법규에 규정된 제대혈 검사로는 제대혈 유핵세포수 및 세포 생존율, 미생물 배양검사 및 감염성 질환 검사 등이 있다. 전혈구수(complete blood count, CBC)검사는 제대혈의 유핵세포 수 산정을 위한 기본 검사이며, 제대혈 저장여부를 결정짓는 첫 번째 요소이다. 하지만, 최근까지 제대혈의 전혈구수 검사 결과 해석을 중요시 여기지 않았다. 그리고 제대혈에서 전혈구수의 참고치를 설정한 대규모 연구 결과가 많지 않아 제대혈의 검사 결과 해석과 저장 적합성 평가에 있어 외국에서 소규모로 연구한 결과[3-5]나 말초혈액의 전혈구수 참고치를 부분적으로 참고하고 있는 실정이다.

이에 저자들은 제대혈은행에 위탁 보관된 다양한 채취량의 분포를 갖는 가족제대혈 검체를 대상으로 제대혈의 무게에 따른 전혈구수에 대한 참고치를 설정하고자 하였다.

Ⅱ. 대상 및 방법

1. 대상

2011년 8월 11일부터 12월 31일까지 메디포스트(주) 제대혈은행에 위탁되어 가공 후 보관이 완료된 제대혈 5,533단위를 대상으로 하였다.

채취된 제대혈은 무게에 따라 세 개의 무게군으로 나뉘었고 40～99g은 2,989단위, 100～139g은 2,171단위, 140g 이상은 373단위로 분석하였다.

2. 방법

1) 무게 측정

제대혈은 각 분만병원에서 항응고제(citrate posphate dextrose adenine,CPDA-1) 24.5mL 포함된 채취백에 채취되어져 운송 담당자에 의해 실온 상태를 유지하여 제대혈은행으로 운반 된다. 운송된 제대혈은 먼저 제대혈 채취백에 달려 있는 긴 라인을 sealer (Tube sealer, SE200, Centron Technologies Corporation, Korea)를 이용하여 봉합 후 제거한다. 라인이 정리된 채취백을 저울(BJ 410C, Precisa Instruments Ltd., Switzerland)에 올려 무게를 재고 계측된 값에서 채취백의 무게를 뺀 값을 취한다. 본 연구에서 설정된 제대혈 무게는 채취된 순수 제대혈량에 항응고제(citrate posphate dextrose adenine, CPDA-1) 24.5mL가 포함된 값이다.

2) 검사

채취백의 제대혈을 10분 이상 잘 혼합한 후 1mL를 채취하여 전혈구수 검사를 시행하였다. 분석 장비로는 자동혈구분석기 ADVIA 2120 (Siemens, USA)을 이용하였고 혈색소, 백혈구수, 백혈구 감별계수(호중구, 림프구, 단구, 호산구, 호염구 백분율), 혈소판수를 측정하였다.

3) 항목별 참고치 설정 기준

제대혈의 측정값에서 1/3 법칙에 따라, 즉 최대 측정값에서 두 번째로 큰 측정값을 뺀 절대값이 최대 측정값과 최소 측정값 차이의 1/3 이상이면 이때의 최대 측정값은 이상치(outlier)로 간주하여 참고치 설정에서 제외하였고, 최소 측정값에도 같은 기준을 적용하였다. 항목별로 제대혈 측정값의 평균(Mean)과 표준편차(SD), 2.5 및 97.5 백분위수를 산출하였으며, 정규분포가 확인된 항목은 모수법(Mean±2SD)으로, 정규분포가 확인되지 않은 항목은 비모수법(2.5-97.5 백분위수)으로 참고치를 설정하였다[6, 7].

통계 분석에는 SPSS 16.0 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)과 Excel 2007 (Micro soft Office, USA)을 사용하였다.

Ⅲ. 결 과

정규분포를 확인한 결과, 제대혈 무게군 40~99g은 백혈구수와 혈소판수에서 정규분포 가정이 성립되었고 나머지 무게군에서는 혈소판수에서만 정규분포 가정이 성립되었다.
항목별로 제대혈 측정값의 평균(Mean)과 표준편차(SD), 2.5 및 97.5 백분위수를 산출하여, 제대혈 전혈구수의 평균과 표준편차는 Table 1에, 2.5 및 97.5 백분위수는 Table 2에 제시하였다. 모든 무게군에서 정규분포를 확인한 혈소판수는 모수법(Mean±2SD)에 의하여 하한과 상한 참고범위를 설정하였으며, 나머지 항목은 정규분포 가정이 성립되지 않아 비모수법인 2.5 percentile과 97.5 percentile 각각의 값을 참고범위의 하한과 상한으로 설정하였다(Table 3).

Table 1. Complete blood count values (Mean±SD) by weight groups of cord blood

	40-99g	100-139g	〉140g
Hb (g/dL)	10.1±1.5	11.8±1.1	12.5±1.3
WBC (x10^3/㎕)	8.3±2.7	9.9±3.0	10.8±3.2
Differential count (%)			
Neutrophil	53.9±9.9	53.4±10.1	53.6±10.0
Lymphocyte	35.1±10.3	35.9±10.4	35.8±10.5
Monocyte	7.0±1.7	6.8±1.7	6.8±1.7
Eosinophil	3.1±1.5	3.0±1.5	2.9±1.4
Basophil	1.0±0.7	0.8±0.4	0.9±0.3
Platelet (/㎕)	166.9±40.5	197.1±43.6	211.0±46.0

Abbreviation: CBC, complete blood count; WBC, white blood cell.

Table 2. Complete blood count values (2.5-97.5 percentile) by weight groups of cord blood

	40-99g	100-139g	〉140g
Hb (g/dL)	6.8-12.3	9.6-13.9	10.0-14.9
WBC (x10^3/㎕)	4.0-14.6	5.3-17.0	6.1-18.7
Differential count (%)			
Neutrophil	32.1-71.1	31.7-71.2	32.6-70.1
Lymphocyte	17.8-58.7	18.6-58.3	19.2-59.0
Monocyte	4.0-10.4	3.9-10.5	3.7-10.3
Eosinophil	1.1-6.7	0.9-6.7	0.9-6.8
Basophil	0.4-2.1	0.4-1.7	0.4-1.8
Platelet (/㎕)	98-260	126-297	133-313

Abbreviation: See Table 1.

Table 3. Complete blood count reference values by weight groups of cord blood

	40-99g	100-139g	〉140g
Hb (g/dL)	6.8-12.3	9.6-13.9	10.0-14.9
WBC (x10^3/㎕)	4.0-14.6	5.3-17.0	6.1-18.7
Differential count (%)			
Neutrophil	32.1-71.1	31.7-71.2	32.6-70.1
Lymphocyte	17.8-58.7	18.6-58.3	19.2-59.0
Monocyte	4.0-10.4	3.9-10.5	3.7-10.3
Eosinophil	1.1-6.7	0.9-6.7	0.9-6.8
Basophil	0.4-2.1	0.4-1.7	0.4-1.8
Platelet (/㎕)	85.9-247.9*	109.9-284.3*	119.0-303.0*

*Estimated by using parametric method (mean±2SD); the other results using non-parametric method (2.5-97.5 percentile).
Abbreviation: See Table 1.

Table 3에서 알 수 있듯이, 혈색소와 백혈구수는 무게군에 따라 비례적으로 높아지는 반면,백혈구 감별계수는 무게군에 따른 큰 차이가 없음을 알 수 있다. 혈소판수는 40-99g 무게군의 하한값이 다른 두 무게군에 비해 낮은 편으로, 이는 제대혈 양이 적을수록 혈색소, 백혈구수가 낮은 요인과 같은 효과로 볼 수 있다. 위 결과를 토대로, 혈색소와 백혈구수는 무게군에 따라 참고치를 설정하였고, 백혈구 감별계수와 혈소판수는 무게군별 참고범위를 구분하지 않고 전체 제대혈 값을 대상으로 참고범위를 설정하여 Table 4에 제시하였다.

Table 4. Complete blood count reference values according to weight of cord blood

	40-99g	100-139g	〉140g
Hb (g/dL)	6.8-12.3	9.6-13.9	10.0-14.9
WBC (x10^3/㎕)	4.0-14.6	5.3-17.0	6.1-18.7
Differential count (%)			
Neutrophil	32.0-71.1		
Lymphocyte	18.3-58.6		
Monocyte	3.9-10.5		
Eosinophil	1.0-6.7		
Basophil	0.4-1.9		
Platelet (/㎕)	91.3-272.1*		

*Estimated by using parametric method (mean±2SD); the other results using non-parametric method (2.5-97.5 percentile).
Abbreviation: See Table 1,

Table 5. Comparison between CBC reference values established in this study and the study using donated CB units

	donated CB units	This study
Hb (g/dL)	9.0-14.4	7.3-13.7
WBC(x10^3/㎕)	5.6-18.5	4.3-16.1
Differential count (%)		
Neutrophil	40.8-72.4	32.0-71.1
Lymphocyte	17.2-46.7	18.3-58.6
Monocyte	4.9-12.8	3.9-10.5
Eosinophil	0.7-7.0	1.0-6.7
Basophil	0.0-1.6	0.4-1.9
Platelet (/㎕)	130-286*	91.3-272.1*

*Estimated by using parametric method (mean±2SD); the other results using non-parametric method (2.5-97.5 percentile).
Abbreviation: See Table 1; CB, cord blood.

Ⅳ. 고 찰

최근 의학의 발전으로 제대혈을 이용한 난치병 치료에 많은 진전을 보이고 있고 세포치료제의 중요한 자원으로도 활용됨으로써 제대혈의 활용가치는 더욱더 높아질 것으로 보인다. 최근에 제대혈이 조혈모세포이식에 이용되어지는 경우가 종종 생김으로써 임상적인 중요성이 커지고 있어 제대혈의 전혈구수에 대한 연구가 필요하다.

참고범위의 설정과 해석은 임상에 있어 매우 중요한 문제지만 제대혈 보관에 있어 참고범위의 설정과 결과 해석에 관한 인식은 매우 낮은 편이다. 현재 사용하고 있는 제대혈의 전혈구수

참고범위는 외국에서 소규모로 연구한 결과[3-5]이거나 말초혈액의 참고치로, 제대혈에 그대로 적용하는 것이 타당한지에 대한 정확한 검토 없이 참고하고 있는 실정이다. 제대혈에 대한 정확한 참고범위가 존재하지 않아, 실무에서는 자동혈구분석기를 이용하여 전혈구수 측정 시 재검사를 해야 하거나 도말표본을 제작하여 수기법으로 확인해야 하는 경우가 많이 발생한다. 특히 백혈구 감별계수(호중구, 림프구, 단구, 호산구, 호염구 백분율)는 제대혈 가공처리의 진행 및 저장 여부를 결정하는 요인에 크게 영향을 미치지 않는 검사 항목이면서도 전혈구수 검사에서 재검을 많이 요구하는 항목이기도 하다. 이는 현재 사용하고 있는 참고범위의 오류를 보여주는 것이라 생각된다.

최근에 국내에서 자동혈구분석기를 이용한 제대혈 전혈구수에 대한 대규모 연구[6]가 보고되었다. 이 연구는 아무런 대가 없이 순수하게 기증된 제대혈을 보관하는 기증제대혈은행의 제대혈 2,129단위를 대상으로 하였고, 이 연구에서 산정한 제대혈 전혈구수 참고치[6]와 비교해 보면, 본 연구에서 제대혈의 혈색소, 백혈구수 그리고 혈소판수가 상대적으로 낮았는데(Table 5), 이러한 차이는 채취된 제대혈의 용량 차이에서 오는 결과로 생각된다. 가족제대혈이 기증제대혈에 비해 보관 적합한 총 유핵세포 수의 기준이 낮기 때문에 보관 가능한 제대혈 용량도 비례하여 적다. 제대혈의 총량에 따른 총 유핵세포 수의 상관관계를 본 연구 결과를 보면 제대혈의 용량이 증가함에 따라 총 유핵세포수(total nuclea ted cells, TNC)가 증가하는 것을 볼 수 있었으며, 이는 모두 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다[8].

본 연구에서는 위탁자와의 계약에 의해서 위탁보관을 하고 있는 가족제대혈은행을 기준으로 하여 제대혈 채취량에 있어 다양한 분포를 갖는 가족제대혈 검체를 대상으로 제대혈의 무게에 따른 전혈구수에 대한 참고치를 설정하였다. 본 연구는 대단위의 가족제대혈을 대상으로 하였고 제대혈의 채취량을 세 개의 무게 그룹으로 나뉘어 제대혈 무게에 따라 전혈구 수 참고치를 설정했다는 점에서 의의가 있다. 본 연구를 통해 설정된 참고치는 제대혈 무게군이 다양한 가족제대혈을 보관하는 제대혈은행에서 제대혈 검사 결과를 해석하는데 유용할 것이고, 더 나아가 제대혈이 질병치료에 효과적으로 사용되기 위해서는 냉동보관되는 제대혈에 대한 품질관리가 우선되어야 하는데, 그것의 기본이 될 것이다.

참고문헌

[1] Knudtzon S. In vitro growth of granulocytic colonies from circulating cells in human cord blood. *Blood.* 1974;43:357-61.

[2] Young-Ho Lee, M.D., Ph.D. Cord Blood-Current Status and Perspective. *Korean J Hematol* 2007;42:181-196.

[3] Pranke P, Failace RR, Allebrandt WF, Steibel G, Schmidt F, Nardi NB. Hematologic and immunopheotypic characterization of human umbilical cord blood. *Acta Haematol* 2001;105:71-6

[4] Walka MM, Sonntag J, Kage A, Dudenhausen JW, Obladen M. Complete blood counts from umbilical cords of healthy term newborns by two automated cytometers. *Acta Haematol* 1998;100:167-73.

[5] Rolfo A, Maconi M, Cardaropoli S, Biolcati M, Danise P, Todros T. Nucleated red blood cells in term fetuses: reference values using an automated analyzer. *Neonatology* 2007;92:205-8.

[6] Hye Ryun Lee, M.D., Sue Shin, M.D., Jong Hyun Yoon, M.D., Byoung Jae Kim, M.D., Kyu Ri Hwang, M.D., Jin Ju Kim, M.D., *et al*. Complete Blood Count Reference Values of Donated Cord Blood from Korean Neonates. *Korean J Lab Med* 2009;28:179-84)

[7] National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline C28-A2. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2007.

[8] Si Won Lee, M.D., Jae Hyug Yang, M.D., Jin Hoon Chung, M.D., Yeon Kyung Cho, M.D., Jung Han Kim, M.D., Dal Soo Hong, M.D., *et al*. Factors Affecting the Volume of Umbilical Cord Blood. *Korean Journal of Fetal Medicine* 2006.

[9] Hee-Yeon Woo, M.D., Young Jae Kim, M.D., Hyosoon Park, M.D. Establishment of Reference Intervals of Tumor Markers in Korean Adults. *Korean J lab Med* 2008;28:179-84.

[10] Jin Chan Lee, Soon Ki Kim, Chang Kyou Lee, Seung Gwan Lee, Hyun Sil Lee, and Kyung Jin Cho. *J Lab Med Qual Assur* 2006;28:229-37.

[11] Oski FA and Naiman JL. Nomal blood values in the newborn period. In: Hematologic problems in the Newborn. 2nd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders, 1972;1-30.

[12] Nam R, Kang MS, Han JY, Lee EY, Kim SH. Reference values of cord blood and peripheral blood of neonate. *Korean J Clin Pathol* 1989;9:59-69.

[13] NCCLS. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory: Approved Guidelines. NCCLS document C28-A, 1995;15.

한국의 제대혈 이식과 보관 : 11년간의 기증 제대혈은행 운영 현황

메디포스트(주) 생명공학연구소
양정윤 · 최기훈 · 김희정 · 임소진 · 홍혜경 · 오원일

Cord Blood Banking and Transplantation in Korea: A 11 Years Experience of a Single Public Bank

Jung Yun Yang · Ki Hoon Choi · Hee Jung Kim · So Jin Lim · Hye Kyung Hong · Won Il Oh
Biomedical Research Institute, MEDIPOST Co., Ltd., Seoul, Republic of Korea

Background: Umbilical cord blood(UCB) has successfully used for transplantation to treat wide variety of disorders. Herein, we describe the experience generated during this period(November 2000-December 2011) in a single public cord blood bank in Korea.

Method: Good manufacturing practice and standard operating procedures were used to address donor selection as well as UCB collection, processing, cryopreservation and release. Total nucleated cells(TNCs), cellular viability, CD34+ cells were determined, and infectious diseases screening test, sterility test, and HLA typing for UCB units were done.

Results: 8,434 UCB units were cryopreserved in 11 years. The volume of UCB units was 102.2±20.2ml. The number of TNCs after processing was $8.16\pm2.62x10^8$.0.28±0.16% of the TNCs were CD34+ cells. Based mainly in HLA and nucleated cell content, 419 UCB units were released for transplantation.

Conclusion: A public UCB bank was successfully established in Korea; collection and processing of UCB units should be optimized in order to gain maximum volume and cell count.

Key words : Umbilical cord blood, transplantation, cryopreservation

I. 서 론

1988년 세계 최초로 제대혈이 동종 조혈모세포 이식에 성공적으로 사용하였다. 이 환자는 판코니 빈혈을 앓고 있는 5세의 남아로, 환자의 여동생 출생 시 제대혈을 채취 및 처리하여 냉동 보관하였으며, 환자와의 주조직 적합성 항원이 일치함을 확인한 뒤 이식을 시행하였다[1]. 국내에서는 1999년 재발된 급성혼합형백혈병 환자에게 동생의 냉동보관 제대혈을 이식하여 처음으로 성공하였으며, 그 이후부터 간헐적으로 제대혈 이식이 이루어졌으나 2003년 1월부터 제대혈이식이 소아에서 의료보험 급여 인정을 받게 되면서 증가하는 추세이다

[18,19]. 현재 제대혈 유래 동종 조혈모세포 이식은 백혈병, 선천성 면역 결핍증, 골수 부전증, 대사 이상 증후군을 포함한 다양한 질환에 효과적인 치료방법으로 쓰이고 있다[2]. 제대혈은 혈액·면역학적 기능을 가진 조혈모세포와 전구세포를 포함하고 있고, 제대혈은행에서는 조혈모세포 성분을 분리 가공 후 냉동 상태로 저장하였다가 이식을 필요로 하는 시점에서 해동하여 사용할 수 있다. 또한, 조혈모세포 이식에 사용하는 제대혈은 이식 편대 숙주병(graft-versus-host disease,GVHD)의 발병이 낮아 HLA 1~2개가 불일치해도 이식이 가능하며, 미리 세포를 분리하여 조직적합항원(Human Leukocyte antigen,HLA) 검사 완료 후 냉동 상태로 저장하기 때문에 HLA가 일치하는 공여자를 찾기 위한 시간도 필요하지 않다. 제대혈은행은 산모로부터 기증 받은 제대혈에서 조혈모세포를 보관 한 후 저장하였다가 향후 조직 적합성이 일치하는 환자의 이식을 위해 사용하는 기증 은행과 태어날 아이의 보호자에 의해 보관 의뢰 계약을 하여 아이 본인 또는 아이와 조직적합항원(HLA)이 부분 또는 완전 일치하는 가족이 사용하기 위한 가족 은행의 두 가지 형태로 운영한다.

최초의 기증 제대혈은행은 1993년 Rubinstein 등이 설립한 New York Blood Center이다[3]. 한국에서는 2011년 관련 법(제대혈 관리 및 연구에 관한 법률)의 허가를 받은 17개의 제대혈은행이 있으며, 이중 가족 제대혈은행만 운영하는 기관, 기증 제대혈은행만 운영하는 기관, 두 가지 형태 모두 운영하는 기관이 있다. 2000년 설립한 본 제대혈은행은 기증은행과 가족은행 두 가지 형태의 은행을 모두 운영하고 있다. 본 내용에서는 기증 제대혈은행에서의 제대혈 보관과 이식에 관한 경험을 기술하고자 한다.

II. 대상 및 방법

1. 대상

2000년 11월 6일부터 2011년 12월 31일까지 메디포스트(주) 기증제대혈은행에 제대혈 기증을 서면으로 동의한 산모로부터 채취한 제대혈 중 저장에 적합한 제대혈 8,434단위를 대상으로 하였다.

2. 방법

1) 채취

기증 동의서에 자발적으로 동의 및 서명한 산모에게서 출산 시 분만을 담당한 산부인과 의사가 태아 만출 직후 태반이 나오기 전에 제대를 결찰하고 항응고제 CPDA(citrate-phosphate-dextrose-adenin)-1을 포함한 채취 백에 채취 절차에 따라 제대혈을 채취하였으며, 채취된 제대혈은 운송 담당자에 의해 온도(4-25℃)를 유지하면서 기증 동의서 및 채취 기록 문서와 같이 제대혈은행으로 운반하였다.

2) 검사

기증된 제대혈은 일차적으로 산모의 의학 병력 기록과 제대혈 채취 기록를 검토한 후 제대혈은행 표준 업무 지침(보건복지부,2005.08)과 제대혈 관리 및 연구에 관한 법률(보건복지부,2011.07)에 부합한 검사를 시행하였다. 혈액량은 채취백의 무게를 제외한 혈액량과 항응고제 (CPDA-1)양을 측정한 후, 1mL를 채취하여 처리 전 세포 수와 세포 생존도를 검사하였다. 제대혈은행 표준 업무 지침에 따라 처리한 농축제대혈(concentrated leukocyte rich plasma, CLRP) 0.5mL에서는 처리 후 총 유핵세포 수(total nucleated cells:TNCs),CD34 양성 세포

수(조혈모세포 양성 표지자)를 검사하였다. 동결 보존제 첨가 후 냉동 직전 소량의 혈액을 채취하여 처리 후 세포 생존도를 검사하였다.

(1) 세포 생존도 검사: 0.4% Tryphan blue dye exclusion법(Tryphan blue solution,SIGMA)으로 시행하였고, 검사자간 오차를 줄이기 위해 한 검체에 두 명 이상 교차 확인하 여 평균값으로 나타내었다.

(2) 총 유핵세포 수(Total nucleated cell, TNC): 자동 혈액 분석기 SYSMEX KX-21(Sysmex, Kobe, Japan)과 ADVIA 2120(SIMENS Healthcare, USA)를 이용하여 가공 처 리 후의 백혈구수를 확인하였다.

(3) CD34 양성 세포 수(CD34+ cells) 검사: 처리 후 농축 제대혈의 CD34 양성 세포 수를 유세포 분석기 FACSCalibur(Becton Dickinson, USA)를 이용하여 확인하였다. 검사는 ISHAG 방법에 따라 FITC-CD45 단클론항체(Becton Dickinson, USA)로 백혈구 분획 을 gating하고 PE-CD34 단클론항체(Becton Dickinson, USA)로 CD34 양성 세포 수 를 산정하였다.

(4) 조직적합성항원 검사(HLA Typing): high resolution PCR-SSOP 방법으로 INNO-LiPA Kit(INNOGENETICS, Belgium)와 Dynal Kti(Biotech, UK)의 시약과 분석 프로 그램을 사용하였다.

(5) 혈액형 검사: anti-A(Murine IgM monoclonal,Millipore,UK), anti-B(Murine IgM mon oclonal,Millipore,UK), anti-D(Human IgG/IgM monoclonal,UK)로 시행하였으며 처리 전 혈액과 처리 후 제거 된 농축 적혈구를 대상으로 검사하였다.

(6) 미생물 배양 검사(Sterility test): 분리 후 제거 된 혈장을 호기성 혈액 배양 용기(Thioglycollate broth,TSB,KOMED,한국)와 혐기성 혈액 배양 용기(Trypticase soy broth: THIO,KOMED,한국)에 각각 2mL씩 분주하여 37℃ 배양기(JEIOTEC,한국)에서 7일간 배양 후, 맹검 배양(Blind culture)을 시행하여 균의 유무를 확인하였다. 이 검사는 제 대혈 채취 시와 운송, 처리과정 중의 혈액 오염을 확인 하기 위함이다.

(7) 감염성 질환 검사: 제대혈의 혈장과 제대혈과 함께 입고 된 산모혈액으로 C형 간염검사(anti-HCV), B형 간염검사(HBs Ag), 선천성 면역 결핍 바이러스 검사(anti-HIV type 1/2), 매독검사(Treponemal test,TPHA), 거대세포 바이러스(Cytomegalo virus,anti -CMV IgM)검사, 인체T림프영양성 바이러스(Human T-lymphotropic virus,anti-HTL V type1/2)를 시행하였다.

상기 검사 중 HLA Typing 검사와 감염성 질환 검사는 ㈜랩지노믹스 검사센터 연구소에 수탁을 의뢰하여 시행하였다.

3) 가공

외부의 오염 물질 혼입을 방지하기 위해 혈액백 외부를 소독하고 백의 파손 여부를 확인한 후, 채취량을 측정하였다. 최초 세포 상태를 확인하기 위해 혈액 1mL을 채취하고, 채혈량 1:4의 비율로 혈장 증량제인 hetastarch(HES,Pentaspan, 제일약품㈜,한국)를 혈액 백에 첨가하였다. 혈장 증량제와 혈액을 혼합한 후, 원심 분리 장비(Sorvall RC3C+, Kendro Laboratory Products,USA)와 분리기(Auto volume expressor, Thermogenesis, USA)를 사용하여 적혈구와 혈장을 제거하고 조혈모세포가 포함된 농축 제대혈층(concentrated leukocyte rich plasma, CLRP) 20mL을 동결보존제 5mL과 함께 냉동 백(ThermoGenesis Corporation& Pall Corporation,USA)으로 옮겼다. 혈액 분리와 제거 작업을 위한 혈액의 이동은 Transfer bag set(Thermogenesis Corporation& Pall Corporation,USA)를 사용하여 무균적으로 시행하였

다. 50% dimethyl sulfoxide(DMSO, Cryosev, Bioniche Teo., Inverin, Co.Galway, Ireland)와 dextran 40(대한약품공업㈜,한국)를 포함한 동결보존제는 가공 처리한 농축 제대혈에 실린지펌프(Syring pump, KD Scientific,USA)를 사용하여 지정한 속도를 주입하였고, 최종 DMSO의 농도는 10%이었다[3]. 냉동 백은 밀봉하여 오염과 충격을 방지하기 위해 캐니스터에 넣고 자동 냉각 장치인 CRF(controlled-rate freezer, Thermo Scientific CryoMed Freezer, USA)를 사용하여 냉각하였다. 냉각된 혈액은 액체 질소를 담은 초저온 냉동 보관 Tank(MVE, MVE-Chart, USA)에 -196℃로 장기간 저장하였다.

4) 이식

가공 처리와 검사의 과정에서 일탈이 발생하지 않고, 제대혈은행 표준 업무 지침과 제대혈 관리 및 연구에 관한 법률 기준을 준수한 제대혈의 모든 검사 결과와 정보는 국내외 각 이식센터의 전문의가 조회 및 검색할 수 있도록 한국 조혈모세포은행 협회(Korea Marrow Donor Program,KMDP) 또는 질병관리본부 장기이식관리센터(Korea Network for Organ Sharing, KONOS)의 검색 프로그램에 등록하였다. 이식센터에서는 환자와 HLA가 주조직 복합체수준에서 A,B,DR이 일치하거나 부분 일치하는 제대혈을 선정하여 제대혈은행으로 정보 확인을 요청하고, 제대혈은행은 냉동 보관 중인 제대혈의 segment part로 확인 검사를 시행하였다. 이식이 확정되면 일정에 맞춰 이식센터로 제대혈을 온도 추적 장치가 부착된 이동용 운송용기에 넣어 -196℃의 온도를 유지하여 환자에게 제공하였다.

2001년부터 2011년까지 본 제대혈은행에서 제대혈 이식을 수행한 환자를 대상으로 이식 세포수, 질환별, HLA 일치율별, 연도별 현황 등을 조사하였다.

III. 결 과

1) 가공 및 검사

채취한 혈액량은 102.2±20.2ml(range,70.0-221.0), 가공 처리 후 총 유핵 세포수는 8.16±2.62. $x10^8$/unit(range,5.0-46.0)이었다. 냉동 전 CD34 양성 세포 수는 2.24±1.84$x10^6$/unit(range,0.0 5-39.24)이고, CD34 양성 세포 비율은 0.28±0.16%(range,0.04-1.80) 이었다. 가공 전 세포의 생존도는 96.7±2.1%(range,82.0-99.0), 냉동 전 동결 보존제 첨가한 세포의 생존도는 85.8±3. 8%(range,80.0-97.0)으로 나타났다(Table 1).

Table 1. 채취량과 세포 수, 세포 생존도 검사 결과

	Mean(Range)	SD
Volume collected(≥70ml), ml	102.2(70.0-221.0)	20.2
TNCs after processing, $x10^8$/unit	8.16(5.0-46.0)	2.62
CD34+cells, $x10^6$/unit	2.24(0.05-39.24)	1.84
Rate of CD34+/CD45+ cells,%	0.28(0.04-1.80)	0.16
Cells viability before processing,%	96.7(82.0-99.0)	2.1
Cells viability after processing(add DMSO),%	85.8(80.0-97.0)	3.8

본 제대혈은행에서의 HLA-A는 총 17alleles, HLA-B는 총 39alleles, HLA-DRB1은 총 14 alleles로 확인하였다. 대부분의 빈도는 A*02, A*24, A*33, A*11, A*26, B*44, B*62,

B*51, B*61, B*58, B*35, B*54, DRB1*04, DRB1*15, DRB1*13, DRB1*08, DRB1*09, DRB1*14, DRB1*12, DRB1*01, DRB1*07를 보였다(Table 2).

Table 2. HLA 유전자 빈도

HLA-A*	%	HLA-B*	%	HLA-DRB1*	%
02:XX	49.9	44:XX	19.9	04:XX	35.5
24:XX	39.3	62:XX	19.1	15:XX	21.8
33:XX	29.8	51:XX	18.7	13:XX	21.0
11:XX	20.1	61:XX	17.0	08:XX	19.0
26:XX	13.5	58:XX	12.4	09:XX	18.7
		35:XX	12.3	14:XX	15.0
		54:XX	11.5	12:XX	14.9
				01:XX	12.6
				07:XX	12.5

9,053 단위의 제대혈 중 미생물 배양 검사를 시행하여 0.77%(70/9,053)의 세균 검출률을 보였다. 감염 질환 검사는 0.07%(6/9,053)의 양성율을 나타냈다. 감염 검사 항목별로는 HBs Ag 양성 0%(0/9,053), anti-HCV 양성 0.02%(2/9,053), anti-HIV1/2 양성 0%(0/9,053), TPHA 양성 0.02%(2/9,053), CMV IgM 양성 0.02%(2/9,053)이었다. 감염 질환 양성 제대혈은 산모의 산전 혈액에서도 모두 양성의 결과를 보였다.

2)이식

2001년 3월 14일부터 2011년 12월 29일까지 총 309명의 환자에게 419단위의 제대혈을 이식하였다. 이 중 성인 51명에게 제대혈 72단위, 소아 258명에게 347단위를 이식하였으며, 냉동 보관 된 제대혈 중 4.97%(419/8,434)를 이식에 사용하였다. 이식 환자의 체중은 31.7±20.12Kg(range,5.0-86.0)이었고, 이식한 제대혈의 총 유핵세포 수는 $10.37x10^8$±3.70/unit(range,3.20-32.4), CD34 양성 세포 수는 $4.23X10^6$±2.92/unit(range,0.5-23.7)을 나타냈다(Table 3). 이식 시 주입한 제대혈의 총유핵세포수는 평균 $3.27x10^7$/Kg, CD34양성세포수는 평균 $1.33x10^5$/Kg를 나타냈다.

Table 3. 제대혈 이식 대상 환자의 체중과 세포 수

	Mean(Range)	SD
체중, Kg	31.7(5.0-86.0)	20.12
TNCs, $x10^8$/unit	10.37(3.20-32.40)	3.70
CD34+cells, $x10^6$/unit	4.23(0.5-23.7)	2.92

국내 이식 센터에 415단위, 국외 이식 센터에 4단위를 불출하였고 국외 이식센터로는 미국, 스웨덴, 호주, 캐나다로 각 국가별 이식 적합 절차에 따라 시행하였다.

제대혈 조혈모세포 이식 대상 질환은 백혈병이 81.2%(251/309), Aplastic anemia를 비롯한 빈혈이 7.4%(23/309)이며 골수 이형성 증후군, 림프조직구 증식증, 골석화증, Wiskott-

Aldrich 증후군, 중증 복합 면역 결핍증을 비롯한 기타 질환이 11.3%(35/309)를 나타냈다 (Table 4).

Table 4. 제대혈 조혈모세포 이식 환자 질환 분포

대상 질환	환자(명)	%
급성 골수성 백혈병(AML, ANLL)	112	36.2
급성 림프구성 백혈병(ALL)	101	32.7
연소성 골수 단구성 백혈병(JMML)	14	4.5
만성 골수성 백혈병(CML)	10	3.2
기타 백혈병(Infantile leukemia등)	14	4.5
Anemia(aplastic, fanconi, congenital dyserythropoietic)	23	7.4
골수이형성증후군,림프조직구 증식증,골석화증	18	5.8
Wiskott-Aldrich syndrome, Adreno-leukodystrophy	7	2.3
증증복합면역결핍증,ChronicEBVinfection,congenital Neutropenia,	4	1.3
Krabbe disease, Neuroblastoma 등	6	1.9
Total	309	100

조혈모세포 이식을 시행한 제대혈과 환자와의 HLA 일치율의 분포는 완전일치 8.1%(34/419), 1개 불일치 65.8%(276/419), 2개 불일치 25.1%(105/419), 3개 불일치 0.96%(4/419)를 보였다. 연도별 제대혈 이식은 2001년 13단위, 2002년 10단위, 2003년 27단위, 2004년 52단위, 2005년 58단위, 2006년 96단위, 2007년 60단위, 2008년 40단위, 2009년 33단위, 2010년 14단위, 2011년 16단위를 시행하였다(Fig. 1).

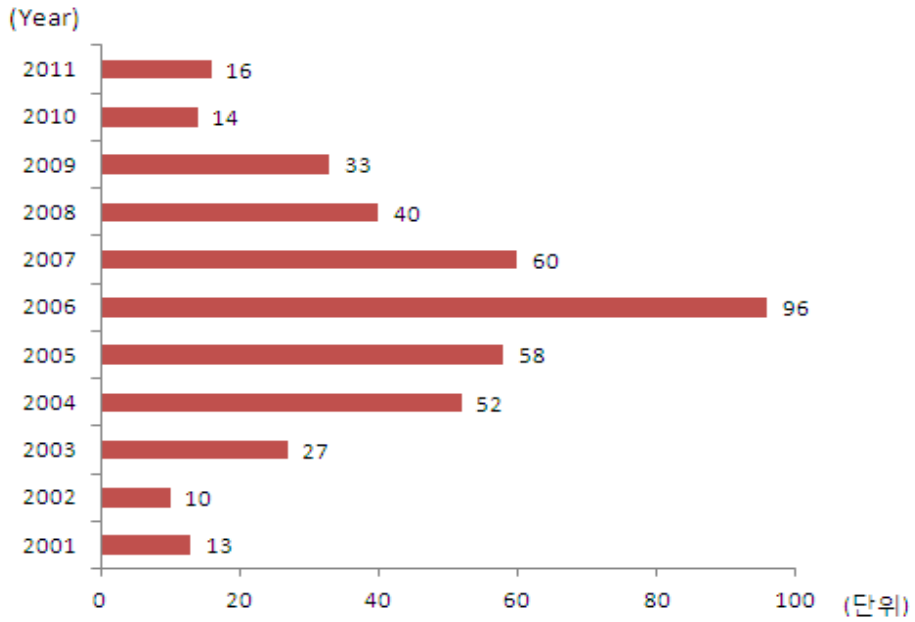


Fig. 1. 제대혈 연도별 이식 사례

Ⅳ. 고 찰

제대혈은 다양한 유전, 혈액, 면역, 대사, 종양 질환의 치료를 위한 조혈모세포와 전구세포를 포함하고 있는 임상적으로 유용한 자원이다[4-6]. 골수나 PBSC(Peripheral Blood Stem Cell)에 비해 제대혈의 가장 큰 장점은 조혈모세포 이식 시 제대혈은행에서 제대혈을 즉시 공급받을 수 있고, 이식으로 인한 이식편대숙주병(Graft-versus-host-disease,GVHD)이 상대적으로 낮다는 것이다[7-8]. 이러한 이유로 세계의 각 지역에서 제대혈을 가공하여 동결 보관하는 제대혈은행을 운영하고 있다.

우리나라는 1997년 삼성서울병원과 가톨릭대학교에 기증제대혈은행을 설립하였고, 본 은행은 2000년 설립하여 기증자의 조건을 제대혈은행 표준 업무 지침(보건복지부,2005.08)과 제대혈 관리 및 연구에 관한 법률(보건복지부,2011.07)에 준수하여 선정하였다[9,18].

본 은행에 보관 중인 총유핵세포수는 $8.16\pm2.62x10^8$으로 다른 나라에 비해 낮은 수치를 보이며 이는 세포 수득률이 더 높은 자동 분리 장비를 사용하기 때문으로 사료된다. 동결 보존제를 첨가한 세포의 생존도는 85.8±3.8%으로 이식 적합한 수치(≥80%)이며, 제대혈 내 세균 배양 검사에서의 0.77%의 오염율은 외국 제대혈은행의 세균 오염율보다 훨씬 낮은 수치를 보인다. 상기 결과는 본 은행이 분리 가공에 적합한 시설과 안정된 기술로 제대혈은행을 운영하고 있음을 증명한다[11]. 제대혈의 조직적합성을 분석한 결과 HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1의 유전자 빈도는 이미 보고된 한국인의 유전자 빈도와 일치하였다[16-17].

본 은행은 2010년까지 국내 제대혈 이식의 77.8%(388/499)를 수행하였고[15], 보관된 총 8,434단위의 제대혈 중 419단위가 환자 이식을 위해 사용하였다. 2006년 이후로 본 은행의 제대혈 이식이 감소하기 시작한 것은 이 시점에 설립된 기증 은행인 서울특별시립 보라매병원 제대혈은행 영향 때문일 것으로 생각한다. 10년 동안 본 은행 제대혈 이식 사용율은 4.97%로 바르셀로나 제대혈은행(4.67%)과 비슷한 수치를, 뉴욕 제대혈은행(6.59%)과 동경 제대혈은행(6.21%)보다는 낮은 사용율을 보인다[12].

소아에서 HLA가 1～2개 불일치한 제대혈을 이식 받은 경우에 골수이식을 받은 경우보다 생착은 느리지만 대부분의 환자에서 완전한 조혈기능을 회복하게 된다는 보고가 있었다[20,21]. 반면, 성인에서는 이식에 필요한 총유핵세포수의 상대적 부족으로 인하여 많은 환자들에게 적용되지 못하고 있으며, 본 은행의 결과도 이식 환자의 82.8%가 소아였으며, 대상 질환은 백혈병이 81.2%를 차지하였다. 그러나 혈액종양 질환 이외의 골수 이형성 증후군을 비롯한 다른 대사 및 유전 질환에 제대혈 이식을 시행하는 것으로 보아 대상 질환의 범위가 확대되고 있다고 볼 수 있다. 제대혈이식의 치료성적을 좌우하는 데는 주입되는 세포수가 가장 중요한 인자이며, 세포수가 많게 되면 HLA 불일치를 일부 극복할 수도 있다[18]. 많은 연구자들이 성공적인 제대혈이식을 위한 최소한의 주입 총 유핵 세포 수로서 $3.0x10^7$/Kg, CD34 양성 세포 수는 최소한 $1x10^5$/Kg가 필요하다고 한다[18,21]. 본 은행의 이식 시 주입하는 총 유핵 세포 수는 $3.27x10^7$/Kg이며, CD34 양성 세포 수는 $1.33x10^5$/Kg으로 이식 시 충분한 세포가 환자에게 투여되었다고 사료된다.

최근 의학의 발전으로 제대혈을 이용한 난치병 치료에 많은 진전을 보이고 있다. 이와 같은 제대혈이 질병치료에 효과적으로 사용되기 위해서는 냉동보관되는 제대혈에 대한 품질관리가 우선기반이 되어야 한다. 제대혈의 품질은 분리 방법, 절차, 저장 온도 및 관리에 영향을 받으며 이에 본 은행에서는 closed system과 적혈구와 혈장의 양을 줄이는 방법을 이용하여 실용성과 효율성, 비용면에서도 유용하게 운영하고 있다[10]. 이 분리, 저장 방법은 본 제대혈은행

설립 시 국내 소개된 이후 타 제대혈은행에서도 동일한 방법으로 처리, 보관하고 있으며 제대혈 채취 및 분리방법을 표준화하였다.

2011년 7월 보건복지부에서는 제대혈과 제대혈은행의 품질관리에 대한 법적 근거를 마련하기 위해 '제대혈 관리 및 연구에 관한 법률'을 제정하여 시행하였다. 이는 국가적인 제대혈은행에 대한 관리와 규제로 인해 조혈모세포 이식을 비롯한 세포치료제로 사용할 수 있는 제대혈에 대한 높은 수준의 품질관리를 요구한다. 본 은행은 관련 법에서 제시한 품질 관리 수준 이상으로 현재 운영하고 있으며, 이로 인해 환자의 질병치료에 제대혈을 효과적으로 사용할 수 있고 제대혈은행에 대한 높은 신뢰가 생길 수 있기를 기대한다.

참고문헌

[1] Hurley CK, Raffoux C: World Marrow Donor Association:international standards for unrelated hematopoietic stem cell donor registries. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34: 103-110.

[2] Hurley CK, Foeken L, Horowitz M,Lindberg B, McGregor M, Sacchi N, WMDA Accr editation and Regulatory Committees:Standards, regulations and accreditation for regi stries involved in the worldwide exchange of hematopoietic stem cell donors and pro ducts. *Bone Marrow Transplant.* 2010;45-819-824.

[3] Rubinstein P, Dobrila L, Richard E, Rosenfield RE, Adamson JW, Migliaccio G, Migli accio AR, Taylor PE, Stevens CE:Processing and cryopreservation of placental/umbili cal cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995;92:10119-10122.

[4] Rocha V, Cornish J, Siecers EL, Flipovich A, Locatelli F, Peters C, Remberger M,Mi chel G, Arcese W, Dallorso S, Tiedemann K, Busca A, Chan KW, Kato S, Ortega J, Vowels M, Zander A, Souillet G, Oakill A, Woolfrey A, Pay AL, Green A, Garnier F, Ionescu I, Gluckman E: Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and u mbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. *Blood.* 2001;97-2962- 2971.

[5] Smith FO, Thomson BG: Umbilical cord blood collection, banking, and transplantatio n:current status and issues relevant to perinatal caregivers. *Birth.* 2000;27:127-135.

[6] Ballen KK:New trends in umbilical cord blood transplantation .*Blood.* 2005;105: 3786-3 792.

[7] Gluckman E: Current status of umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplan tation. *Exp Hematol.* 2000;28:1197-1205.

[8] Wadlow RC, Porter DL: Umbilical cord blood transplantation:where do we stand? *Blood Marrow Transplant.* 2002;8:637-647.

[9] Nakagawa R, Watanabe T, Kawano Y, Kanai S, Suzuya H, Kaneko M, Watanabe H, Okamoto Y, Kuroda Y, Nakayama T, Chugoku-Shikoku Cord Blood Bank: Analysis o f maternal and neonatal factors that influence the nucleated and CD34+ cell yield for cord blood banking. *Transfusion.* 2004;44:262-267.

[10] Hongyou Yang, Acker JP, Abley D, McGann LE, Akabutu J: High efficiency volume

reduction of cord blood using pentastarch. Bone Marrow Transplant. 2001;27:457-461.
[11] Jinhui L, Ji H, Shu C, Fei Q, Fang W, Gang X, Faming Z, Hangjun L, Lixing Y: C ord blood banking and transplantation in china: a ten years experience of single publ ic bank. *Tranfus Med Hematherapy.* 2012;39:23-27.
[12] Guerra-Marquex A, Novelo-Garza B, Malagon-Martinez A, Limon-Flores A, Luna- Bautista F, Juan-Shum L, Montero-Ponce I, Sanchez-Valle E, Penaflor K, Velez-R uelas MA, Romero-Juarez Y, Mayani H: Cord blood banking and transplantation at the Mexican Institute of Social Security: the first 5 years. *Transfusion.* 2011;51:328- 332.
[13] Yang H, Loutfy MR, Mayerhofer S, Shuen P : Factors affecting banking quality of umbilical cord blood for transplantation. *Transfusion.* 2011;51:284-292.
[14] Lauber S, Latta M Kluter H, Muller-Steinhardt M: The Mannheim Cord Blood Ban k: experiences and perspectives for the future. *Transfus Med Hemother.* 2010;37:90-97.
[15] Y-H Lee, Y-H Kwon, K-J Hwang, H-J Jun, M-A Lee, H-I Jang, J-H Nah, H-H Koo, T-J Hwang: Analysis of stored and transplanted cord blood units from Korea CORD: reappraisal of banking guidelines and selection strategy; *Transfusion.* 2012 May 21. doi: 10.1111/j.1537-2995.2012.03712.x.
[16] 임영애, 곽연식: 한국인의 HLA-DQB1 유전자 빈도와 DRB1과의 연관성 조사. *Koean J Clin Pathol.* 1999;19:535-41.
[17] 황상현, 오흥범, 양진혁, 권오중, 신은순: 한국인의 HLA-A,-B,-C 대립유전자와 일배체형 분포. *Korea J Lab Med.* 2004; 24:396-404.
[18] Young-Ho Lee: Cord blood- Current status and perspective. *Korea J Hematol.* 2007;42:181-196.
[19] Lee YH, Cho NC, Je KH, et al. Successful sibling cord blood stem cell transplantation for relapsed acute mixed lineage leukemia. *Korean J Hematol.* 1999;34:471-6.
[20] Michel G, Rocha V, Chevret S, et al. Unrelated cord blood transplantation for childhood acute myeloid leukemia: a Eurocord Group analysis. *Blood.* 2003;102:4290-7.
[21] Wagner JE, Baker JN, DeFor TE, et al. Transplatation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases:influence of C D34cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood.* 2002;100:1611-8.

냉동 보관된 제대혈 조혈모세포의 냉동 전과 해동 후의 보관 기간별 검사 결과 분석

메디포스트(주) 생명공학연구소
임소진 · 김희정 · 양정윤 · 홍혜경 · 오원일

Analysis of test results before freezing and after thawing hematopoietic cell from umbilical cord blood units according to cryopreserved period

So Jin Lim · Hee Jung Kim · Jung Yun Yang · Hye Kyung Hong · Won Il Oh
Biomedical Research Institute, MEDIPOST Co., Ltd., Seoul, Korea

The aim of this study was to evaluate the quality of long-term cryopreserved umbilical cord blood(UCB) units for hematopoietic cell transplantation. In this study, we used all 661 UCB samples which were cryopreserved from less than 1year to more than 10years. We compared how the test results after thawing had changed according to storage duration. The recovery of the number of total nucleated cells(TNC), hematopoietic progenitor cells(CD34+ cells), and the percentage of viable cells of UCB units cryopreserved for 10years for hematopoietic cell transplantation were examined. The mean level of the recovery rate was obtained TNC(100.3 ± 12.7 $x10^8$/unit), CD34+ cells(99.3 ± 32.20 $x10^6$/unit) and cell viability(100.3 ± 6.8%). These results indicate that long-term cryopreservation does not affect the quality of CB units for hematopoietic cell transplantation.

Key words : Umbilical cord blood, Cryopreservation, Hematopoietic cell transplantation.

Ⅰ. 서 론

자가재생능력과 모든 조직세포로 분화할 수 있는 잠재력을 가진 줄기세포를 이용한 세포치료는 신경계질환, 심혈관계 및 내분비질환, 골 및 관절질환, 자가면역질환, 암, 요실금, 폐질환, 탈모 등의 거의 모든 질환에서 폭넓게 적용되며 희귀병 및 만성질환 치료에까지 재생의학으로서의 핵심으로 자리 잡고 있다. 성체줄기세포로 구분되는 조혈모세포는 자가 복제 및 분화를 통해 백혈구, 적혈구 및 혈소판 등의 혈액세포를 만들어 내는 세포이다. 조혈모세포의 공급원으로 인정되고 있는 제대혈 조혈모세포 또한 국내외에서 많은 이식이 이루어지면서 주목 받고 있다[1-3,5]. 국내에서는 1999년 재발된 급성혼합형백혈병 환자에게 동생의 냉동 보관된 제대혈 이식하여 처음으로 성공하면서[4] 2010년까지 499단위의 이식이 이루어졌다

[5]. 제대혈의 조혈모세포뿐만 아니라 다양한 줄기세포가 포함된 연구[6]가 보고되면서 국내외에서 제대혈 보관에 대한 관심이 높다. 현재와 미래에 중요한 자원이 되는 제대혈이 국내뿐만아니라 세계적으로도 10년 이상 장기간 보관되고 있다. 그러므로 냉동 보관된 제대혈의 품질 유지에 대한 보고가 필요하다. 본 연구에서는 냉동 보관 기간이 1년 미만인 제대혈부터 10년 이상까지 제대혈의 냉동 전과 해동 후의 검사결과를 분석하였다.

Ⅱ. 대상 및 방법

1. 대상

본 연구는 2011년 7월 제대혈 관리 및 연구에 따른 법률이 시행되고 보건복지부 허가를 받은 메디포스트㈜ 제대혈은행에서 실시되었다.

2000년 11월부터 2009년 11월까지 메디포스트㈜ 제대혈은행에 기증 의뢰되어 보관처리 완료된 제대혈 661단위를 대상으로 하였으며 대상 제대혈은 기증 동의서에 자발적으로 동의 및 서명한 산모로부터 채취되었다.

해동된 제대혈의 선정은 이식센터에서 한국 조혈모세포 협회(KMDP) 또는 질병관리본부 장기이식센터(KONOS)의 검색프로그램을 이용하여 확인검사를 요청한 제대혈로 시행하였다.

본 연구는 제대혈 냉동 전과 해동 후의 유핵 세포 수(TNC, total nucleated cell), 조혈모세포 표지자 양성 세포 수(CD34+ cells), 세포 생존율 검사결과를 보관 기간별로 분류하여 분석하였다.

2. 방법

1) 제대혈 채취

분만을 담당한 산부인과 의사가 태아와 탯줄이 완전히 만출된 이후에 탯줄을 절단한 다음 태반이 만출 되기 이전에 탯줄 정맥에 주사하여 항응고제(citrate phosphate dextrose adenine, CPDA-1)가 포함된 채취백에 제대혈을 채취하였다.

2) 제대혈 가공

제대혈 보관 처리법은 적혈구 혈장 제거법으로 Rubinstein법[7]에 의한 것이다. 제대혈에 적혈구 침강제인 25% hydroxyethyl starch(HES, Pentaspan, 제일약품, 한국)을 첨가 후 첫번째 원심 분리하였다. Transfer/Freezing bag set(ThermoGenesis, USA)와 연결하여 적혈구를 제거한 다음 두번째 원심 분리를 하였다. 혈장을 제거하고 최종적으로 20㎖의 제대혈 농축인 유핵 세포(CLRP, concentrated leukocyte-rich plasma)를 분리하였다.

3) 제대혈 동결 보관 및 해동 확인 검사

분리된 제대혈 농축 유핵 세포에 20% dimethylsulfoxide(DMSO, Cryoserv, BionichePharma, USA)와 dextran40(대한약품, 한국)를 혼합하여 만들어진 10% 동결보존제(DMSO/dextran) 5㎖를 천천히 주입한다. 유핵 세포의 최종 보관량은 25㎖이며 초저온 온도에도 견딜 수 있는 재질로 된 freezing bag(ThermoGenesis, USA)에 보관된다. Freezing bag은 외부 오염이나 충격 노출을 방지하기 위해 overwrap bag에 넣은 후, sealer(FujiImpulse, USA)로 sealing 후 알루미늄 canister에 넣는다. Canister를 냉동기(CRF, controlled rate freezing, ThermoForma, USA)에 넣고 냉동 프로그램으로 단계적으로 -90℃까지 온도를 낮추어 준다. 동결된 제대혈 농축 유핵 세포는 -196℃의 액체질소탱크(liquid nitrogen tank)에 보관한다.

냉동된 제대혈의 해동 확인 검사는 freezing bag에 연결되어 있는 segment로 시행한다.

4) 총 유핵 세포 수 검사

총 유핵 세포 수(TNC)는 자동혈구분석기인 Sysmex KX-21(Sysmex, Japan)와 ADVIA 2120(Siemens, USA)를 이용하였다.

해동 후의 세포 수 검사는 segment의 제대혈 농축 유핵 세포를 5배로 희석하여 시행하였다.

회수율 = (해동 후 TNC/냉동 전 TNC) x 100

5) 조혈모세포 표지자 양성 세포 수(CD34+ cells) 검사

제대혈 농축 유핵 세포 100㎕에 Mouse IgG1 PE(phycoerythrin), CD45 FITC(fluorescein isothiocyanate), CD34 PE로 표지된 단클론항체(BD Biosciences, USA)를 각각 10㎕씩 혼합한 후 상온 암소에 10분 방치하고, 적혈구 용해액 2㎖를 첨가하여 다시 상온 암소에 15분 방치한 후 원심 분리 하였다. 적혈구 용해가 완료된 후 FACSFlow(BD Biosciences, USA) 2㎖로 원심분리하여 세척한다. 고정완충액(1% paraformaldehyde-PBS) 1㎖로 고정한 후 부유시켜 유세포 분석기(FACSCalibur, Becton Dickinson, USA)의 Cell Quest software로 분석하였다. 분석된 Gated %로 세포의 수를 계산하였다(Fig. 1).

CD34+ cells = (Gated %/100) x WBC

회수율 = (해동 후 CD34+ cells/냉동 전 CD34+ cells) x 100

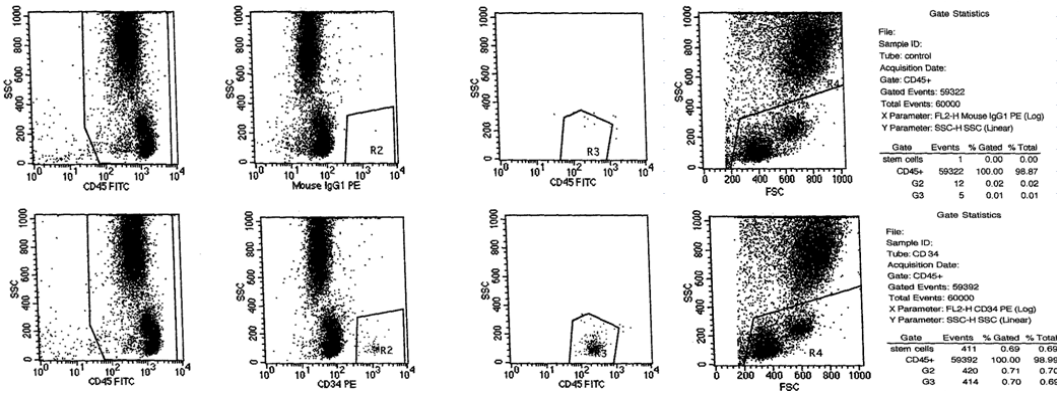


Fig. 1. The characteristics of the HCB-MNCs. The CD34, CD45 and Mouse IgG maker used for the FACSCalibur data of HCB-MNCs.

6) 세포 생존율 검사

Trypan blue dye-exclusion법으로 trypan blue용액(Sigma, USA)과 제대혈 농축 유핵 세포를 1:1로 희석 후 염색된 세포를 죽은 세포와 구분하여 전체 세포 수에 대한 생존 세포를 계수하였다.

회수율 = (해동 후 세포 생존율/냉동 전 세포 생존율) x 100

7) 통계

제대혈 냉동 전과 해동 후의 총 유핵 세포 수, 조혈모세포 표지자 양성 세포 수, 세포 생존율 검사 결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었다.

Ⅲ. 결 과

제대혈의 냉동 전과 해동 후 총 유핵 세포 수(TNC), 조혈모세포 표지자 양성 세포 수(CD34+ cells)와 세포 생존율 검사결과는 보관 기간별로 각각 Table 1, Table 2와 Table 3에 제시하였다.

제대혈의 냉동 전과 해동 후 데이터를 분석한 결과 총 유핵 세포 수 평균은 각각 10.2 $x10^8$/unit, 10.2 $x10^8$/unit 이고 평균 회수율은 100.3%이었다. 냉동 전과 해동 후 제대혈의 CD34+ cells 평균은 각각 4.07 $x10^6$/unit, 3.96 $x10^6$/unit이고 평균 회수율은 99.3%이었다. 냉동 전과 해동 후 제대혈의 세포 생존율는 각각 82.6%, 82.9%이고 평균 회수율은 100.3%이었다(Table 4).

Table 1. Before freezing and after thawing TNC($x10^8$/unit) for cord blood units(mean ± SD)

Storage period	Samples(N)	Before freezing	After thawing	Recovery(%)
〈 1 year	64	10.9 ± 4.4	10.7 ± 4.4	99.3 ± 12.5
〈 2 year	115	11.0 ± 3.4	11.3 ± 3.5	103.9 ± 15.0
〈 3 year	114	9.7 ± 3.1	9.6 ± 3.5	100.0 ± 15.0
〈 4 year	104	9.9 ± 4.1	9.9 ± 4.2	100.5 ± 11.1
〈 5 year	84	10.1 ± 3.3	9.9 ± 3.5	97.6 ± 9.9
〈 6 year	61	10.0 ± 3.3	10.0 ± 3.5	99.4 ± 10.4
〈 7 year	57	10.5 ± 3.5	10.5 ± 3.9	99.9 ± 12.6
〈 8 year	32	9.3 ± 3.7	9.3 ± 3.5	101.3 ± 10.2
〈 9 year	12	9.7 ± 2.6	9.5 ± 3.1	97.2 ± 15.0
〈 10 year	10	11.2 ± 2.9	11.1 ± 3.1	99.1 ± 10.8
≥ 10 year	8	8.1 ± 2.5	8.2 ± 2.2	102.9 ± 10.3

Table 2. Before freezing and after thawing CD34+ cells($x10^6$/unit) for cord blood units (mean±SD)

Storage period	Samples(N)	Before freezing	After thawing	Recovery(%)
〈 1 year	64	5.04 ± 3.58	4.75 ± 3.52	95.7 ± 22.18
〈 2 year	115	4.34 ± 2.57	4.16 ± 2.70	96.6 ± 37.59
〈 3 year	114	3.90 ± 2.47	3.82 ± 2.66	98.4 ± 27.52
〈 4 year	104	3.87 ± 2.51	3.75 ± 2.47	96.7 ± 33.47
〈 5 year	84	3.74 ± 2.75	3.38 ± 2.05	99.6 ± 35.05
〈 6 year	61	4.80 ± 3.58	4.55 ± 3.47	97.5 ± 30.20
〈 7 year	57	3.50 ± 2.08	3.65 ± 2.27	105.8 ± 33.53
〈 8 year	32	3.37 ± 1.82	3.78 ± 2.63	110.8 ± 28.47
〈 9 year	12	3.23 ± 2.15	3.28 ± 2.28	100.7 ± 29.98
〈 10 year	10	5.05 ± 1.39	6.05 ± 2.70	118.4 ± 41.42
≥ 10 year	8	2.16 ± 1.04	2.35 ± 1.71	103.2 ± 31.70

Table 3. Before freezing and after thawing cell viability(%) for cord blood units(mean ± SD)

Storage period	Samples(N)	Before freezing	After thawing	Recovery(%)
〈 1 year	64	83.9 ± 5.4	82.4 ± 4.7	98.3 ± 5.4
〈 2 year	115	82.2 ± 5.1	81.7 ± 6.4	99.6 ± 8.2
〈 3 year	114	81.9 ± 5.4	82.2 ± 6.1	100.7 ± 6.2
〈 4 year	104	83.1 ± 5.2	83.5 ± 5.3	100.7 ± 6.8
〈 5 year	84	82.4 ± 5.8	82.7 ± 4.9	100.9 ± 7.4
〈 6 year	61	83.6 ± 5.9	83.9 ± 5.1	100.5 ± 5.8
〈 7 year	57	82.7 ± 6.3	84.4 ± 4.9	102.1 ± 6.3
〈 8 year	32	82.1 ± 5.5	84.9 ± 6.0	102.3 ± 5.1
〈 9 year	12	81.3 ± 7.2	80.4 ± 7.7	93.3 ± 3.7
〈 10 year	10	81.2 ± 8.0	80.8 ± 5.6	97.4 ± 4.5
≥ 10 year	8	84.0 ± 5.1	86.6 ± 4.6	101.3 ± 5.4

Table 4. Before freezing and after thawing data for cord blood units(mean ± SD)

	Before freezing	After thawing	Recovery(%)
TNC($x10^8$/unit)	10.2 ± 3.6	10.2 ± 3.8	100.3 ± 12.7
CD34+ cells($x10^6$/unit)	4.07 ± 2.73	3.96 ± 2.74	99.3 ± 32.20
Cell viability(%)	82.6 ± 5.5	82.9 ± 5.6	100.3 ± 6.8

Abbreviations: TNC, total nucleated cell

Ⅳ. 고 찰

제대혈에 줄기세포가 풍부하다는 연구가 보고되면서 전 세계적으로도 제대혈에 대한 관심이 높다. 1988년 최초의 제대혈 이식이[8] 이루어지면서 골수 이식을 대체할 조혈모세포 공급원으로 제대혈 조혈모세포 이식이 활발히 시행되고 있다. 제대혈 조혈모세포 이식은 제대혈을 쉽게 얻을 수 있으며 공여자 검색이 신속히 이루어질 수 있고 이식편대 숙주병이 적게 발생한다는 장점[9,10]으로 계속 증가하고 있다. 세계적으로도 많은 제대혈은행에서 제대혈이 보관되고 있는데 세계 기증 제대혈은행의 네트워크인 NetCORD에 2010년 2월 기준 200,000단위 이상이 보관된 것으로 등록 되어있다[5]. 국내에서는 2011년 6월 기준 기증 제대혈 25,000단위 이상이 등록되어 있다[5]. 이와 같이 최초 이식 보고 이후 많은 제대혈이 10년 이상 장기간 보관되어지고 있다. 따라서 보관된 제대혈의 이식이 시행 될 때는 보관 기간이 오래된 제대혈도 사용되어진다. 제대혈 이식 적합여부를 결정할 때는 총 유핵 세포 수(TNC), 조혈모세포 표지자 양성세포 수(CD34+ cells), 세포 생존율 등이 중요한 인자가 된다[5]. 본 연구에서는 제대혈 보관 기간 1년 미만부터 10년 이상까지를 분류하여 총 유핵 세포 수, 조혈모세포 표지자 양성세포 수 및 세포 생존율의 결과를 제대혈 냉동 전과 해동 후로 비교 분석 해보았다.

제대혈 이식의 치료 성적을 좌우하는 데는 총 유핵 세포수가 가장 중요한 인자이며 총 유핵 세포 수가 많으면 조직적합성항원의 불일치도 극복할 수 있다[6]. 제대혈의 냉동 전과 해동 후의 총 유핵 세포 수 결과를 비교 했을 때 냉동 후의 감소된 결과도 있지만 평균 회수율은

냉동 전 총 유핵 세포 수를 유지하고 있음을 보여준다. 이러한 결과는 제대혈 냉동 전과 해동 후의 총 유핵 세포 수 결과를 보고한 연구들과 일치하는 소견을 보인 것이다[11-13]. 반면 해동 후의 결과가 높게 나타난 것은 세포 수 검사를 시행하는 검사 시료인 segment의 검체량이 적은 점과 희석배수가 영향을 미쳤을 것으로 사료된다.

조혈모세포 표지자 양성 세포 수(CD34+ cells) 또한 제대혈 이식에 중요한 지표로 된다[1]. CD34 세포 표면항원은 BFU-E, CFU-GM, CFU-Meg, CFU-GEMM, CFU-Blast 등의 전구세포 표면에서 표현되며, 미성숙 원시세포에서 최고로 표현되고 성숙함에 따라 점차 감소한다[15]. 제대혈 내 CD34+ cells의 빈도는 성인의 골수와 비슷하며[16] 이식 후 생착 및 예후에 중요한 영향을 미치므로 CD34+ cells이 충분해야 한다[17]. 본 연구에서는 제대혈의 해동 후에 감소된 결과도 있지만 평균 회수율은 냉동 전과 같이 유지되고 있음을 확인 할 수 있다. 그러나 해동 후의 CD34+ cells 결과가 높게 나타난 것은 CD34+ cells의 결과를 계산할 때 세포수가 반영되므로 세포 수에 따른 것이라고 할 수 있겠다. CD34+ cells 또한 세포 수와 같이 해동 확인 검사를 시행하는 segment의 검사 시료량이 적어 오차가 발생할 수 있기 때문으로 사료된다. 연구 보고에는 본 연구와 비슷한 결과인 해동 후 97%가 있다[18].

제대혈의 세포 생존율 측정은 냉동된 제대혈의 보관 상태를 잘 반영하는 요인이 된다. 제대혈이 장기간 보관되면 해동 후 세포 생존율이 감소된다고 예상 할 수 있겠지만 -196℃의 액체질소에 완전히 담겨져 최적의 조건으로 보관된 본 연구의 제대혈은 평균 세포 생존율 냉동 전과 비슷하게 유지되었음을 알 수 있다. 해동 후 결과가 높게 측정된 값이 있는 것은 Trypan blue 염색법이 신속하게 측정되는 장점이 있으나 수기로 판독하므로 검사자에 따른 주관적 판독이라는 점과 해동 후에는 적혈구 깨져 백혈구가 더 잘 보일 수 있다는 점이 있기 때문으로 생각된다.

이상의 결과를 종합하면 제대혈 보관 기간이 제대혈 보관 품질 유지에 영향을 미치지 않는 것으로 확인된다. 또한 제대혈 이식 후 자료 분석에 따르면 평균 2.49년의 냉동 보관기간을 기준으로 무질병생존율의 차이가 없다는 연구 보고도 있다[19]. 냉동 전과 해동 후의 검사 결과를 발표한 연구[11-14,18,20]는 많지만 본 연구가 다른 점은 보관 기간별로 분류하여 분석한 점과 대단위를 대상으로 연구되었다는 것이다.

보건복지부 업무 지침에 의거하여 제대혈 품질 관리가 유지되고 있음을 증명하였으며 향후 10년 이상부터 20년, 30년된 제대혈의 연구 발표도 지속적으로 이루어져야한다. 제대혈 이식의 치료 성적에 영향을 줄 수 있는 냉동된 제대혈의 품질 유지로 질병에 효과적으로 사용되어 더욱 제대혈 이식이 시행되기를 기대한다.

참고문헌

[1] Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, Baker KS, Blazar BR, Eide C, *et al.* Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood*. 2002;100:1611-8.

[2] Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P, Wagner JE, Zhang MJ, Champlin RE, *et al.* Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *N Engl J Med*. 2004;351:2265-75.

[3] Rocha V, Labopin M, Sanz G, Arcese W, Schwerdtfeger R, Bosi A, *et al.* Transplants

of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med*. 2004;351:2276-85.
[4] Lee YH, Cho NC, Je KH, *et al.* Successful sibling cord blood stem cell transplantation for relapsed acute mixed lineage leukemia. *Korean J Hematol* 1999;34:471-6.
[5] Lee YH, Kwon YH, Hwang KJ, Jun HJ, Lee MA, Jang HI, *et al*. Analysis of stored and transplanted cord blood units from and KoreaCORD: reappraisal of banking guidelines and selection strategy. *Transfusion* 2012 May 21.
[6] Young Ho Lee. Cord Blood-Current Status and Perspective. *Korean J Hematol* 2007;42:181-196.
[7] Rubinstein P, Dobria L, Rosenfield RE, Adamson JW, Migliaccio G, Migliaccio AR, *et al.* Processing and cryopreservation of placental/umbilical cord blood for unrelated bone marrow reconstitution. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995;92:10119-22.
[8] Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, *et al*. Hematopoetic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989;321:1174-8.
[9] Bradley MB, Cairo MS. Cord blood immunology and stem cell transplantation. *Hum Immunol* 2005;66;431-46.
[10] Gluckman E, Rocha V. Cord blood transplant: strategy of alternative donor search. *Semin Immun* 2004;26:143-54
[11] Harris DT, Schumacher MJ, Rychlik S, Booth A, Acevedo A, Rubinstein P, *et al.* Collection, separation and cryopreservation of umbilical cord blood for use in transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1994;13:135-43.
[12] Broxmeyer HE, Cooper S. High-efficiency recovery of immature haematopoietic progenitor cells with extensive proliferative capacity from human cord blood cryopreserved for 10 years. *Clin Exp Immunol.* 1997;107:45-53.
[13] Kobylka P, Ivanyi P, Breur-Vriesendorp BS. Preservation of immunological and colony-forming capacities of long-term(15 years) cryopreserved cord blood cells. *Transplantation.* 1998;65:1275-8.
[14] Yamamoto S, Ikeda H, Toyama D, Hayashi M, Akiyama K, Suzuki M, Tanaka Y, Watanabe T, Fujimoto Y, Hosaki I, Nishihira H, Isoyama K. Quality of long-term cryopreserved umbilical cord blood units for hematopoietic cell transplantation. *Int J Hematol.*. 2011;93:99-105.
[15] Mi Jung Lee. Bone marrow stem celltransplantation. *Korean J Pediatr Hematol Oncol* .1995;2:37-44.
[16] Wagner JE. Umbilical cord blood stem cell transplantation. *Am J Pediat Hemato onco.* 1993;15:169-174.
[17] David DF, Dianne EV, James CB. Donor marrow progenitors(CFU-Mix,BFU-E and CFUGM) and haemopoietic engraftment following HLA matched sibling bone marrow transplantation. *Luekemia Reserch*. 1987;11:141-147.
[18] Laroche V, McKenna DH, Moroff G, Schierman T, Kadidlo D, McCullough J. Cell loss and recovery in umbilical cord blood processing: a comparison of postthaw and

postwash samples. *Transfusion*. 2005;45:1909-16.
[19] Rocha V, Gluckman E on behalf of the Eurocord-Netcord registry. Analysis of risk factors affecting survival after UCBT in children and adults with haematological malignancy. The Proceedings of the 5th Annual International Umbilical Cord Blood Transplantation Symposium 2007.
[20] Meyer TP, Hofmann B, Zaisserer J, Jacobs VR, Fuchs B, Rapp S, *et al.* Analysis and cryopreservation of hematopoietic stem and progenitor cells from umbilical cord blood. *Cytotherapy*. 2006;8:265-76

구연발표 Ⅰ

※ 유전 (구연 1 ~ 2)

좌장 : 심문정 교수

FISH검사 전처리 자동화 장비 Xmatrx™와 수기법의 비교 평가

세브란스병원 진단검사의학과
강지연 · 안미숙 · 최종락

배경(Background) : 형광동소보합법 (fluorecence in situ hybridization, FISH)은 형광표지된 probe DNA 를 표적 DNA와 hybridization을 시행한 후 형광 signal로 특정 염색체 및 표적 유전자의 결실 및 위치를 신속하게 진단할 수 있는 검사이다. 본원에서는 2008년 MetaSystem (Zeiss, Germany) 도입 이후로 FISH image를 자동으로 capture하고 이를 분석하여 검사의 자동화와 표준화를 시작하였다. 이후 FISH검사의 전처리 과정을 자동화로 수행하기 위한 일련의 과정들이 ThermoBrite™, VP-2000 등의 반자동화장비를 통하여 시도되었다. 2011년 11월 Xmatrx™ (Abott, U.S.A)를 도입함으로 FISH 과정의 Pre-hybridization step, Probe apply, Post-hybridization step, Counter-stain을 전자동으로 수행하고 있고 현재 검사실에서 유용하게 사용하고 있다. 이에 Xmatrx™ 를 이용한 FISH 검사 결과를 수기법과 비교 평가하였다.

방법(Methods) : 세브란스병원에 2011년11월에 도입되어 2012년 10월 현재까지 사용하고 있는 Xmatrx™의 전반적인 소개와 유용성 등을 소개하고자 한다. 2011년 11월부터 2012년 10월까지 주로 사용하는 20 probe (LSI probe, Abott, U.S.A) 별로 최적화 조건을 설정하였고 재현성 검사를 시행하였다. 또한 수기법과 Xmatrx™ 의 Parallel test를 시행해 검사의 상관성을 평가하였다. 판정 기준은 % CV값으로 비교하였고 허용 % CV는 5% 이내일 때 적합한 것으로 판정하였다.

결과(Results) : 대부분의 probe에서 최적화 조건을 설정하였고 좋은 재현성을 보였다. Parallel test에서 % CV값은 5% 이내에 들어 적합하였다. 하지만 TP53 probe는 % CV값 5% 이상을 보였고, RB1은 % CV값 5% 이내였으나 재현성이 떨어졌고, IGH/MAF는 split-out 현상을 보여 더 최적화의 노력이 요구된다.

고찰(Discussion) : Xmatrx™ 는 수기법과 비교 시 좋은 재현성과 상관성을 보였으나 몇몇의 probe는 최적화된 조건을 더 설정 할 필요가 있었다. Xmatrx™ 는 현재 검사실에서 유용하게 사용되고 있으며 hands-on time을 줄여 throughput을 증가시켰고 결과에 대한 질 향상과 재현성의 향상을 가져왔다. Xmatrx™ 의 사용은 검사 방법을 표준화 하고 수기 전처리 과정에 소요되는 업무 부담과 기술적 오류를 감소시킬 것으로 판단 되므로 유용한 검사 장비로 생각된다. 또한 slide마다 각기 다른 조건을 적용할 수 있으므로 solid tumor의 조직이나 양수 같은 다양한 검체에도 적용할 수 있으리라 생각되며, m-FISH나 FICTION등의 다른 기법에도 다양하게 적용할 수 있으리라 기대한다.

Leukemia 환자에서 Acute leukemia profile test (Hemavision®)의 유용성 (The prognostic value of Acute leukemia profile test (Hemavision®) with leukemia patient)

서울아산병원 진단검사의학과
김지현 · 권미량 · 최미옥 · 지현숙

배경(Background) : Hemavision®은 백혈병의 특별한 subtype들을 결정짓게 하는 28개의 다른 translocation이나 80개 이상의 breakpoint나 splice variant들을 포함한 chromosome rearrangement를 detect하기 위한 Reverse trasnscription-polymerase chain reaction(RT-PCR) Test이다. 이에 본 연구는 최근 2년간 검사한 환자들에 한해서 검출 빈도와 분포 및 임상적 특성을 분석하고자 하였다.

방법(Methods) : 2010년 7월부터 2012년 8월까지 Acute leukemia profile test (Hemavision®)로 의뢰된 419명의 Bone Marrow 또는 Peripheral blood 533개를 대상으로 Acute leukemia profile test (Hemavision®)를 시행하였다. Acute leukemia profile test (Hemavision®) 검사방법은 RNA를 추출하여 cDNA합성을 하여 Screening PCR을 한 다음, 2% Agarose gel로 전기영동하여 band 확인 후 양성 또는 음성으로 결과를 내었다. Screening PCR에서 음성이 나온 검체는 음성으로 최종 결과를 보고하였고, Screening PCR에서 양성이 나온 검체는 다시 Split-out PCR을 시행하여 동정하여 보고하였다. 그리고 이들의 결과를 분석해 보았다.

결과(Results) : 성별은 남성이302예, 여성이 231예였고, 연령층은 6개월부터 91세 까지 였다. 진단명은 ALL이 130예, AML 이 396 예, MPAL 이 7예였다. ALL에서의 양성빈도는 54.6%로 *BCR-ABL*재배열이 가장 많았고 그 중 25.0%가 b3a2 또는 b2a2의 major재배열이었으며 minor 재배열이 72.0%이었고 2예에서 major및 minor 재배열이 공존함을 보여주었다. 반면 혼합형급성백혈병에서는 42.9%에서 *BCR-ABL* 재배열이 관찰되었다. 급성골수성백혈병에서는 의뢰된 396예 중 127예에서 양성반응을 보였는데(32.1%) 그 중 가장 높은 빈도를 보이는 유전형은 *PML-RARA*재배열이었고 *DEK-NUP214*, *AML-ETO* 의 순서이었다. 또한 MLL 재배열이 38예(26.0%)에서 관찰되어 불량한 예후를 보이는 환자군에서의 적극적인 치료가 가능하게 되었다. MLL재배열은 MLL-AF9이 가장 많았고 MLL-AF6,MLL-AF10,MLL-ELL,MLL-MLLT1의 순서로 나타났다.

고찰(Discussion) : Acute leukemia profile test (Hemavision®)는 multiplex RT-PCR assay로써 골수 진단시 보다 정확하고 빠르게 유전자 재배열 정보를 제공하여 환자의 치료에 적극적으로 임할수 있는 중요한 검사로 사료되며 빈도가 높은 재배열의 경우 정량 PCR로서 최소잔존질병의 추적검사로 이용할 수 있겠다.

구연발표 Ⅱ

※ 수혈 (구연 3)

좌장 : 최범열 고문

Passenger Lymphocyte Syndrome

서울 아산병원 혈액은행
양성식

배경(Background) : 최근 장기 이식이 필요한 환자 수에 비하여 이식할 장기가 절대적으로 부족하여 ABO 부적합 장기이식이 적극 시행되고 있다. 특히 최근 면역억제약물의 발달로 인해 수술 후 예후도 좋아짐에 따라 과거에 비해 그 시행빈도가 늘어나고 있는 추세이다. 하지만, 수술 후 ABO부적합 장기이식의 부작용으로 면역기전에 의한 용혈성 빈혈이 생기기도 하는데 이를 Passenger Lymphocyte Syndrome(이하 PLS)이라 한다. 본원에서 이형간 장기이식후 PLS증례가 2례가 있어 보고하는 바이다.

방법(Methods) : 환자의 헤마토크리트, 혈색소, 빌리루빈검사 등을 하였으며, 환자의 적혈구에서 Elution을 통해 공여자의 혈액형 항체를 검출해 냈다.

결과(Results) : IgG, IgM, Complemet등이 감작되어 있었으며, 이형간 장기이식 14일후 Hb 및 Hct가 최저로 떨어져 전형적인 PLS증상을 보였다. Donor의 혈액형 항체가 검출되어 환자의 혈액형이 아닌 O+RBC로 교차시험을 시행하여 수혈하였으며, Therapeutic pheresis를 통해 공여자의 lymphocyte로부터 만들어진 혈액형 항체의 titer를 낮춰주어 환자의 상태가 호전된 것을 확인하였다.

고찰(Discussion) : ABO 불일치 장기 이식일 경우 지속적인 용혈성 빈혈에 대한 검사와 직접항 글로불린검사를 시행하여야 하며, 수술 전 공여자의 비예기항체에 대한 검사도 시행되어야 할 것이다. ABO 불일치 장기 이식 후 7-14일 후 혈색소나 헤마토크리트가 감소하고, 빌리루빈이 증가한다면 PLS를 의심해 봐야 하며, 세밀한 주의와 검사가 필요할 것이다.

특 강 Ⅰ

※ 수혈

연자 : 박경운 (서울의대 검사의학교실)

좌장 : 김동찬 학회장

수혈검사학회 특강 2012.11.03

수혈의학의 현재와 미래

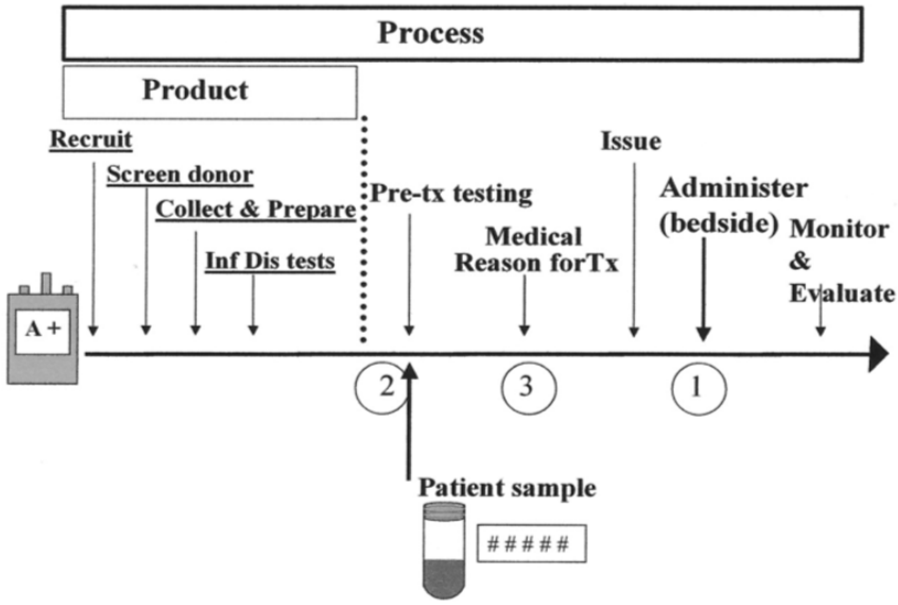
박경운

서울의대 검사의학교실
분당서울대병원 진단검사의학과

- Introduction
- Immunohematological tests
- NAT & Serological tests
- Bacterial Detection in PLT
- Transfusion-Related Cell Count
- Apheresis & Cellular Therapy
- Autologous PRP application
- Molecular blood group typing

Introduction

Transfusion safety vs. Blood safety



Immunohematological tests

Major properties of immunohematological tests (1) (Anal Bioanal Chem 2009)

Test	Detection of	Test principle	Technology	Reactants	Time range per assay (min)	Cost range per assay	Comments
Slide	Blood groups	Agglutination	manual	Patient erythrocytes and antiserum	10–30	++	Insensitive, fast
	Isoagglutinins			Patient serum and indicator erythrocytes			
Tube	Blood groups	Agglutination	manual	Patient erythrocytes and antiserum	10–30	++	Sensitive, time-consuming, centrifugation needed
	Isoagglutinins, antibody screening (indirect Coombs test)			Patient serum and indicator erythrocytes			
Microplate	Blood groups	Agglutination	Manual and automated	Patient erythrocytes and antiserum	10–30	+++	Sensitive, fast, centrifugation usually not needed
	Isoagglutinins, antibody screening (indirect Coombs test)			Patient serum and immobilized erythrocyte antigens			
Gel centrifugation	Blood groups	Agglutination and separation from nonagglutinated erythrocytes by centrifugation	Manual and automated	Patient erythrocytes and antiserum	10–45	+++	Sensitive, time consuming, centrifugation needed, easy documentation
	Isoagglutinins, Antibody screening (indirect Coombs test)			Patient serum and indicator erythrocytes			

Major properties of immunohematological tests (2) (Anal Bioanal Chem 2009)

Test	Detection of	Test principle	Technology	Reactants	Time range per assay (min)	Cost range per assay	Comments
Enzyme	Rhesus alloantibodies, differentiation of alloantibodies	Agglutination, can be performed as tube assay or gel centrifugation	Manual and automated	Patient serum and indicator erythrocytes	30	+++	Highly sensitive, time consuming, requires special knowledge, usually centrifugation needed
Molecular	Blood groups difficult to determine by serological methods	Nucleic acid amplification techniques (PCR-RFLP, PCR-SSP, PCR-SSO)	Largely manual	Patient leukocytes	Hours	+	Highly sensitive, time consuming, no need for rare antisera, requires special knowledge, does not exclude genes that are not expressed from detection
Future trends	Blood groups difficult to determine by serological methods	Microarray, SNP detection, quartz crystal microbalance, surface Plasmon resonance	Still experimental	Patient leukocytes	Hours	?	Promising but still confined to experimental laboratories

NAT & Serological tests

NAT vs. Serologic tests (Transfus Apher Sci 2010)

TMA

Procleix Ultrio & Procleix Discrimination (Chiron)

Immunoassay

Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab (bioMérieux), Innotest HCV Ab III (Innogenetics), Hepanostika Ultra HBsAg (bioMérieux)

Axym HIV Ag/Ab Combo, Axym HCV III, Axym HBsAg 2.0 (Abbott) [for the serologically negative but NAT positive samples]

Access HIV/1-2 Ab, Access HCV Ab, Access HBsAg (Beckman-Coulter) [for the serologically negative but NAT positive samples]

Donors	Anti-HIV/HIV RNA	Anti-HCV/HCV RNA	HBsAG/HBV DNA
18,200	24/4	66/12	318/312

Serology and NAT patterns	HCV	HIV 1	HBV	HBV + HCV	HCV + HIV	HBV + HIV
Serology (+) NAT (–)	56	19	17		1	
Serology (–) NAT (+)	2 (1:9100)	–	11 (1:1654)			
Serology (+) NAT (+)	9	3	297	3		1
Serology (–) NAT (–)			17,784			
Serology (–) NAT:FP*			37			

* FP, False positivity. * FP: positive in the first NAT, but negative in the following two NATs

혈액관리법 시행규칙: 주요 용어 (SNUBH LM)

▌혈액제제의 적격 여부 판단에 따라 적격이 아닌 경우
부적격혈액 (별표 1)

▌헌혈자의 적격 여부 판단에 따라 적격이 아닌 경우
채혈금지대상자 (별표 1의 2)
☞ 헌혈유보

5. 선별검사결과 부적격 요인
과거 헌혈검사에서 B형간염검사, C형간염검사, 후천성면역결핍증검사, 인체(T)림프영양성바이러스검사(혈장성분헌혈의 경우는 제외한다) 및 그 밖에 보건복지부장관이 별도로 정하는 혈액검사 결과 부적격 기준에 해당되는 자

▌헌혈유보군 해제 요청
선별검사결과 부적격자에 대해 시행된 안전성 검사 결과 필요

Bacterial Detection in PLT

[별표 1] <개정 2012.7.4>

부적격혈액의 범위 및 혈액·혈액제제의 적격여부 판정기준

(제2조 관련)

1. 채혈과정에서 응고 또는 오염된 혈액 및 혈액제제
2. 다음의 혈액선별검사에서 부적격기준에 해당되는 혈액 및 혈액제제

검사항목 및 검사방법		부적격기준
비(B)형간염검사	HBsAg 검사	양 성
	HBV 핵산증폭검사	양 성
씨(C)형간염검사	Anti-HCV 검사	양 성
	HCV 핵산증폭검사	양 성
후천성면역결핍증검사	Anti-HIV 검사	양 성
	HIV 핵산증폭검사	양 성
인체티(T)림프영양성바이러스검사(혈장성분헌혈의 경우는 제외한다)	Anti-HTLV-Ⅰ/Ⅱ	양 성
매독검사		양 성
간기능검사(ALT검사)		65 IU/L 이상
※ HBsAg, Anti-HCV, Anti-HIV, Anti-HTLV-Ⅰ/Ⅱ 검사방법은 효소면역측정법(EIA) 또는 이와 동등이상의 감도를 가진 시험방법에 의하여야 함		

비고: 위 검사항목 외에 국민보건을 위하여 긴급하게 필요하다고 판단되는 혈액검사의 부적격 기준은 보건복지부장관이 별도로 정한다.

3. 제7조에 따른 채혈금지대상자 기준 중 감염병 요인, 약물 요인 및 선별검사 결과 부적격 요인에 해당하는 자로부터 채혈된 혈액 및 혈액제제
4. 심한 혼탁을 보이거나 변색 또는 용혈된 혈액 및 혈액제제
5. 혈액용기의 밀봉 또는 표지가 파손된 혈액 및 혈액제제
6. 제12조제2호 가목에 따른 보존기간이 경과한 혈액 및 혈액제제
7. 그 밖에 안전성 등의 이유로 부적격 요인에 해당한다고 보건복지부장관이 정하는 혈액 및 혈액제제

Transfusion-Related Cell Count

Table 5. Discordant platelet counts that may cause an inadequate platelet transfusion ($\times 10^9$/l)

Threshold	Result	AD	XO	XI	LH	IPM
10×10^9/L	Undertransfusion	16	19	19	11	6
		11	11	9	6	6
		12	9	9	9	7
		13	9	8	10	8
		12	9	9	13	9
		13	11	10	9	9
		15	12	13	14	10
	Overtransfusion	11	14	9	8	11
		16	10	10	12	11
		16	17	11	9	12
		16	10	14	12	12
		18	15	11	8	13
		16	13	14	10	14
		17	17	14	9	16
20×10^9/L	Undertransfusion	21	17	19	14	16
		24	17	20	18	16
		21	18	19	19	16
		17	18	25	21	18
		21	17	18	19	19
		21	22	24	20	19
		29	26	26	24	20
		22	22	19	12	20
		28	19	20	24	20
	Overtransfusion	25	18	21	20	21
		22	19	18	16	21
		22	18	22	23	22
		24	21	19	20	22
		24	26	28	20	25
		21	21	24	19	26
		33	29	24	20	26
		21	29	26	18	30
50×10^9/L	Undertransfusion	51	38	45	42	41
		52	39	43	51	46
		51	42	42	48	47

AD = Advia 120; XO = XE-2100 optical mode; XI = XE-2100 impedance mode; LH = LH-750; IPM, immunoplatelet method
Dark gray: the number of cases with a platelet count that may cause undertransfusion; light gray: the number of cases with a platelet count that may cause overtransfusion

Possible inadequate PLT transfusion

(Int J Lab Hematol 2009, SNUBH LM)

Dear dr Park

You have published a paper entitled "Platelet count evaluation using three automated haematology analysers compared with the immunoplatelet reference method, and estimation of possible inadequate platelet transfusion" in International Journal of Haematology. This paper is unfortunately not available for me. According to the abstract that you found a bias for platelet counts between Sysmex 2100, Siemens ADVIA and Beckman Coulter LH750. Was this bias a positive bias for ADVIA and a negative for Coulter LH? We have recently made this observation in Swedish EQA-schemes..

Have the concerned companies made any comments to you results?

Best regards
Gunnar Nordin
MD

Gunnar Nordin
EQUALIS
Box 977, SE-751 09 Uppsala, Sweden

Apheresis & Cellular Therapy

Spectra Optia & Fresenius Kabi COM.TEC

Autologous PRP application

신의료기술평가: autologous PRP application (NECA 2010.07)

안전성은 시술로 인한 사망과 시술 관련 합병증으로 평가하였다.

체계적 문헌고찰 문헌 2편에서는 자가 혈소판 풍부 혈장 치료술의 안전성에 대해서는 문제가 없다고 보고하고 있다. 자가 혈소판 풍부 혈장 치료술과 사망 간의 명확한 인과관계가 증명되지는 않았으나, 심혈관계 질환 환자를 대상으로 한 무작위 임상시험 연구에서 자가 혈소판 풍부 혈장 투여군 중 심장성 원인들(cardiac causes)로 사망한 1례가 보고되었다. 자가 혈소판 풍부 혈장 사용군의 합병증 발생률은 재조합 인간 골형성 단백질 7 투여군과의 비교 연구에서는 더 높았고, 셀룰로오스/콜라겐 시술군과의 비교 연구에서는 동일하였다. 또 자가 혈소판 풍부 혈장 사용군은 비사용군과 비교시 합병증률이 유사한 것으로 보고되었고, 합병증 사례로는 혈종, 재수술, 부종, 장액종, 감염 등이 있었으나 자가 혈소판 풍부 혈장 치료술과의 정확한 연관성을 찾기가 어려웠다.

이에 소위원회에서는 (ⅰ) 선택된 문헌들에서 연구대상이 다양하고, 구체적인 제시가 부족하여 합병증의 발생과 자가 혈소판 풍부 혈장 치료술과의 정확한 연관성을 찾기가 어려웠으며, (ⅱ) 체계적으로 안전성을 검증한 문헌이 부족하여, 자가 혈소판 풍부 혈장 치료술의 안전성에 대해서는 확실한 결론을 내리기 어렵다는 의견이었다.

신의료기술평가: autologous PRP application (NECA 2010.07)

유효성은 조직의 치유나 재생 정도와 여기에 소요되는 기간을 주요한 의료결과로 분석하였다.

체계적 문헌고찰 문헌 2편에서는 골절, 만성 피부 궤양, 외과적 상처 등의 치유에 있어서 자가 혈소판 풍부 혈장의 사용으로 인한 이득에 대해서는 임상적인 근거가 없다고 보고하고 있다. 자가 혈소판 풍부 혈장 사용군은 재조합 인간 골형성 단백질 7 투여군과의 비교 연구에서 골 유합에 효과가 더 낮았고, 셀룰로오스/콜라겐 시술군과의 비교 연구에서 만성 당뇨성 족부 궤양의 치유에 유의한 차이가 없었다. 또한, 자가 혈소판 풍부 혈장 사용군과 비사용군을 비교한 무작위 임상시험 연구 5편 중 4편에서 두 연구집단은 조직의 치유나 재생 정도에 유의한 차이가 없었다. 다만 1편의 문헌에서는 자가 혈소판 풍부 혈장 치료술로 상처치유에 도움이 되었다는 결과가 나왔으나, (ⅰ) 이 연구는 예비적인 보고이고, (ⅱ) 연구 대상의 무작위 할당 방법이 자세하게 기술되어 있지 않으며, (ⅲ) 연구의 시작 시점에서 실험군과 대조군의 동등성에 대한 비교가 없어서, 그 결과를 일반화하기 곤란하였다.

이에 소위원회에서는 대부분의 연구에서 자가 혈소판 풍부 혈장의 사용으로 조직의 치유나 재생 정도에 유의한 차이가 없었으므로, 자가 혈소판 풍부 혈장 치료술의 유효성을 입증하기 어렵다는 의견이었다.

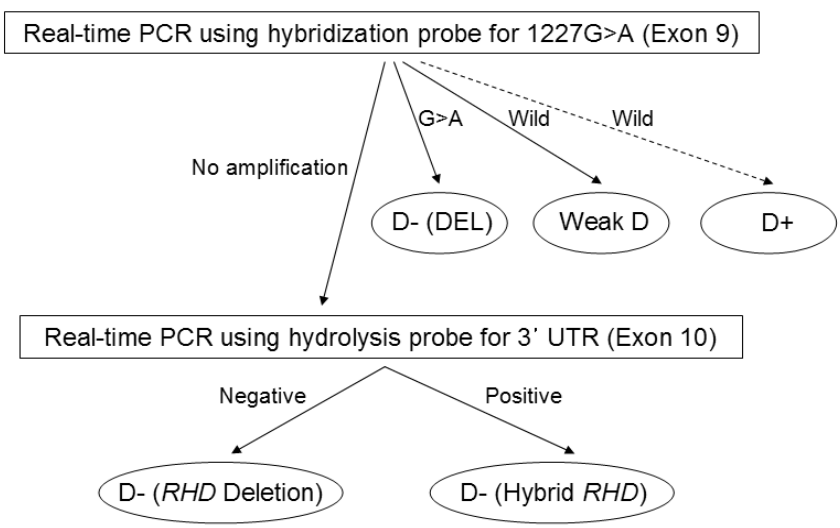
신의료기술평가: autologous PRP application (NECA 2010.07)

신의료기술평가위원회는 자가 혈소판 풍부 혈장 치료술에 대해서 소위원회에서 검토한 사항을 그대로 수용하여 자가 혈소판 풍부 혈장 치료술은 안전성에 대해서는 확실한 결론을 내리기 어려우며, 조직의 치유나 재생 정도에 있어 유효성을 입증하기 어려워서, 아직 안전성 및 유효성에 대한 근거가 부족한 기술로 평가하였다.

신의료기술평가위원회의 심의결과는 소위원회의 검토결과와 함께 2010년 5월 10일 보건복지부장관에게 보고되었다.

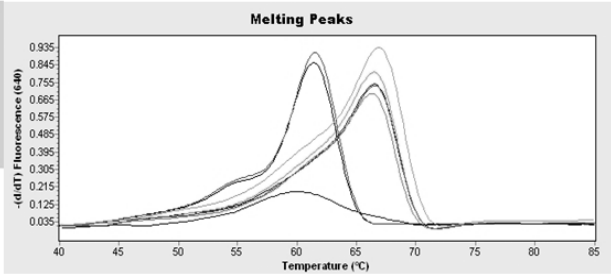
Molecular blood group typing

Rapid genotyping using real-time PCR for D- Koreans (SNUBH LM)



RHD genotyping and determination of *RHD* zygosity (SNUBH LM)

1	K409KR166	−		66.78
2	K409KR168	−		66.74
3	K409KR177	−		66.80
4	K409KR181	+	61.54	
5	K409KR225	−		66.60
6	K409KR174	+	61.67	
7	N/C			
8	P/C	−		67.13



N/C (true D- specimen) → no amplification

P/C (true D+ specimen) → non-*RHD*(K409K) allele

AAG (K) → AAA (K)

[High Tm] [Low Tm]

High Tm: non-*RHD*(K409K) allele

Low Tm: *RHD*(K409K) allele

Primary anti-D immunization by DEL RBCs (KJLM 2009, confirmed by SNUBH LM)

Extremely weak D variants called DEL are serologically detectable only by adsorption-elution techniques. A nucleotide change of exon 9 in *RHD* gene, *RHD* (K409K, 1227G>A) allelic variant is present in almost all the DEL individuals of East Asians. No DEL phenotype has yet been shown to induce a primary alloanti-D immunization in East Asia. A 68-yr-old D-negative Korean man was negative for anti-D at admission, and he developed alloanti-D after transfusion of red blood cells (RBC) from 4 apparently D-negative donors. Four donors who typed D-negative by routine serologic test were analyzed by real-time PCR for *RHD* gene and *RHD* (K409K). One donor was found to have *RHD* (K409K). This is the first case in which DEL RBCs with *RHD* (K409K) induced a primary alloanti-D immunization in Asian population. Because the DEL phenotype can induce an anti-D immunization in D-negative recipients, further discussion is needed whether RhD negative donors should be screened by molecular method and what an efficient genotyping method is for detecting the *RHD* gene carriers in Korea. *(Korean J Lab Med 2009;29:361-5)*

특 강 Ⅱ

※ 면허재신고 등

연자 : 이상호 (대한임상병리사협회 총무이사)

좌장 : 이귀순 학회장

2014년 면허재신고제 실시에 따른 임상병리사평가원 기획 및 보수교육규정 개정(안)

사단법인 대한임상병리사협회 총무이사

이상호

급변하는 의료 환경 변화와 보건복지부의 방침에 따라 우리 협회도 많은 변화와 개선이 불가피한 상황입니다.

2014년부터 면허재신고제가 의료기사 전체로 확대 실시되고, 기사단체 연합회를 중심으로 의료기사교육인증평가제도의 정착 및 발전, 의료기사국가시험의 수준향상, 전문의료기사 자격시험 및 교육기관 질관리 등 의료기사의 질향상 등의 요구에 부응하기 위하여 의료기사평가원(의기평)이 설립 인가를 준비하고 있고, 이 의기평의 산하기구로 임상병리 전문직의 자율조정기구로의 역할을 수행하기 위한 임상병리사 평가원 설립을 준비하고 있습니다. 그동안 큰 변화 없이 정착화 되어있던 우리 협회의 보수교육 규정도 보건복지부 지침에 따라 기본 틀부터 시작하여 다방면의 개정이 실시될 것이며 또한 사이버 보수교육의 강화로 회원들에게 보수교육의 편리성과 접근성 뿐만 아니라 교육의 내실을 기하기 위한 노력이 진행될 예정입니다.

2013년 한 해는 여러 가지 과도기적 혼란과 불편이 예상되지만, 협회의 노력과 회원들의 이해와 적극적 협조로 변화에 따른 어려움들을 함께 극복해나갈 수 있으리라 생각됩니다. 그동안 회원들에게 팽배되어 있는 불만과 고충을 해소 하면서 변화와 혁신을 이뤄내기 위해서는 현재의 편안함에서 벗어나 혼란과 불편을 감수하지 않고는 변화할 수 없고, 해산의 고통 끝에 출산의 기쁨이 오듯 우리의 노력과 협력으로 회원들이 만족할 수 있는 제도와 규정으로 자리잡을 수 있으리라 확신합니다. 변화와 혁신은 큰 그림을 다시 그리는 것이 아니라 작은 것부터, 나부터, 지금부터라는 생각을 하는 것에서 부터 시작된다고 할 수 있습니다. 그 시작점에 서있는 제24대 협회 집행부에게 힘과 지혜와 아낌없는 격려를 부탁드립니다.

특 강 Ⅲ

※ 혈액

연자 : 장성수 (울산의대 서울아산병원)

좌장 : 함천경 고문

체액 세포검사

울산의대 서울아산병원

장성수

임상 검사실에서 체액의 세포검사를 시행하는 체액의 종류는 주로 뇌척수액, 체강액(흉막액, 복막액, 심낭액), 활액 등이다. 이러한 체액은 뇌척수액과 활액등을 제외하고는 정상적으로 아주 소량의 체액만이 존재하게 되며, 체액의 증가는 다양한 병적인 소견을 나타낸다. 체액의 화학 검사뿐 아니라 세포수 계산과 감별계수는 임상적으로 매우 중요하며, 체액내 존재하는 암세포 등을 구별하는 것은 매우 어렵고, 중요한 과정이다. 그 중에서도 체강액의 경우 임상검사실에 가장 많이 의뢰되고 다양한 세포들이 존재하기 때문에 세포의 감별계수를 정확히 하는데 어려움이 있다. 여기서는 주로 체강액을 중심으로 정상소견과 병적인 소견, 감별해야 할 점을 중심으로 살펴보고자 한다.

1. 체강의 해부학

체강내의 기관들은 장막(serous membrane, serosa)라고 불리는 얇은 막으로 둘러싸여 있다. 기관쪽을 둘러싸는 막을 장측막(visceral layer), 체강의 반대편을 둘러싸는 막을 벽측막(parietal layer)이라고 하며, 이 양쪽의 막은 서로 연결이 되어 있어서 외부와는 통하지 않는 폐쇄된 공간을 형성한다(그림3-1). 흉강(pleura, 폐), 복강(peritoneum, 내장), 심낭(pericardium, 심장)은 태생학적으로 동일한 기원(mesenchymal embryonal layer)을 가지고 있기 때문에 유사한 해부학적 구조를 보인다. 장막은 중피세포(mesothelial cell)라는 납작한 세포의 단일층으로 덮여 있는데, 특별한 질환이 없는 경우에는 중피(mesothelium)의 벽측막과 장측막 사이에는 약간의 윤활액만 들어있다.

2. 체강내 유출액

장막 사이의 공간에 공기나 과량의 액체가 차는 것은 병적인 과정이며, 특별한 질환이 없는 경우에는 약간의 윤활액만 들어있다. 체강내에 병적으로 공기가 차는 경우는 위치에 따라 기흉(pneumothorax, 흉강), 기복(pneumoperitoneum, 복강), 심낭기종(pneumopericardium, 심낭) 등이라 하며, 액체가 고인 경우, 특히 혈액이 고인 경우에 각각 혈흉(hemothorax), 혈액복막(hemoperitoneum), 심낭혈종(hemopericardium)이라 한다. 특히 복강내에 유출액이 차는 경우를 복수(ascites)라 한다. 유출액은 그 성분에 따라 누출액(transudate)과 삼출액(exudate)으로 나눌 수 있다.

3. 유출액에서 관찰되는 비종양성 세포

A. 중피세포(mesothelial cells)
B. 대식세포(Macrophage)
C. 혈구세포
D. 간세포

4. 기타 관찰되는 구조

A. 헤모시데린
B. 멜라닌
C. 담즙
D. 크리스탈
E. 섬유소 응괴

5. 종양성 세포

- 체강의 유출액 내에서는 다양한 종양성 세포가 관찰될 수 있다.
- 정상적으로 존재하는 세포를 정확히 아는 것이 종양성 세포를 놓치지 않는 가장 좋은 방법이다.

구연발표 Ⅲ

※ 혈액 (구연 4～5)

좌장 : 변대훈 고문

PFA-100의 Error Message(A,B,C,D,E)의 적합성과 동시 장착된 A & B position 검사결과 비교 연구

고려대학교 안산병원 진단검사의학과
박지혜 · 박만근 · 안은주 · 이현아

배경(Background) : Platelet Function Analyzer-100(PFA-100, Dade-Behring, Marburg, Germany)은 혈소판의 기능 중 부착과 응집 정도를 측정할 수 있는 신속한 측정 장비로 1996년 처음 출시되었고 다음해에 FDA승인을 받아 혈소판 기능이상 측정을 위해 만들어진 기계이다. 혈소판 활성물질이 코팅된 Cartrige Collagen/Epinephrine (Col/EPI), Collagen/ADP (Col/ADP)를 이용하여 혈소판의 기능을 측정하는 기기로 수술 전 지혈기능이상 검사 방법, 아스피린 저항성 검사, 항 혈소판 제제의 반응평가 등 임상적으로 다양하게 적용되고 있다. 간편 신속하고 현장검사가 가능하며 비침습적이고 중증혈소판 장애에 민감하다. 과거 부정확했던 Bleeding time의 대체 검사로 대두되고 있다. 검사를 시행하면서 시약의 단가가 높아 재검율을 줄이고자 하는 목적으로 Error message(A-E)에 대한 연구를 하였고 A & B 위치 검사결과 차이와 A & B Position 모두에서 300초 이상이 나온 경우 다른 한쪽은 대기상태로 혈소판 기능이 감소되면서 뭉치는 경우가 발생하지 않을까 하는 의구심이 생겨 연구과제로 선정하였다.

방법(Methods) : 2010.1 - 2011.10월까지 고대 안산병원을 내원하여 검사한 환자 총 10,956명(여:5260, 남:5696)대상으로 부적합 검체(Hematocrit 〈35%, Platelet 〈$150*10^3$/uL)도 포함하여 모두 검사하였다.

1) Reportable error message (A, D, E)와 Unreportable error message (B,C)의 적합성을 위하여 재검하여 전 & 후를 비교 하였다.
2) A와 B Position에 동시 장착 후 결과값이 Prolong 된 경우 B Position 검체를 재검하였다. 단 환자 병력이나 현재력에 문제가 없거나 Hct 〈35% & Platelet count가 $150*10^3$/uL이하가 아닌 정상으로 예상되는 환자의 검체는 다시 단독으로 A position에서 재검을 시행하여 전, 후의 결과값을 비교하였다.
3) 통계처리는 SPSS 12.0을 이용하여 빈도율을 포함한 Chi－square를 이용하였다. 또한 카이제곱의 기대 빈도가 작은 경우 검정의 부정확 결과를 확인하기 위하여 Fisher's exact test를 이용하여 양측검정을 시행하고 유의수준은 p 〈0.05로 하였다.

결과(Results) : 총 10,956건(Normal 9,412건, Prolong 942건)중 Reportable message A, D, E 중에서 처음에 message A로 나와 재검 후 같은 message A로 결과를 보인 검체는 145건으로 전체의 78%를 차지하였고 D-〉A,D,E message로 나온 경우는 10건(1.6%), 6건(3.2%), 6건(3.2%)로 나왔으며 E-〉 A와 E로 나온 경우는 3건(1.6%)와 9건(4.8%)이었다.
동시 장착한 A & B Position 모두에서 182초 이상으로 연장 된 93건 중 B Position 검체를 재검 하였을때 정상으로 나온 결과가 16건(17.2%), 비정상으로 나온 183-299sec는 14건(15.1%), ≥300 sec은 63건(67.7%)으로 유의한 관련성을 나타냈다(p=0.001).

고찰(Discussion) : Reportable message(A, D, E)의 검체는 전체 186건 중에서 182건으로 대부분을 차지하였으며 이는 단가가 높아 재검이 부담스러운 검사로 재검의 필요성이 없다는 결론을 보여주었다. Unreportable message C 가 표시될때는 flow obstruction인 경우와 현미경 관찰 결과 대부분 Platelet aggregation을 확인할 수 있었으며 재검체를 받는 즉시 바로 검사하도록 권장한다. Air leak일 때 보여주는 B message는 매일 아침 기기점검 시 vaccum을 확인하였더니 나타나지 않았다. 검사를 A Position 과 B Position에 동시 장착 후 둘 다 비정상 결과를 보일 경우 B Position은 재검이 꼭 필요하며, 이는 A Position에서 검사가 진행(300초 이상)되는 동안 B Position에 있는 검체는 대기상태로 혈소판의 응집이 일어나면서 점착능이 제대로 측정 되어지지 않은 결과로 생각 되어진다.

6-color판넬을 이용한 형질세포암의 유세포 분석

세브란스병원 진단검사의학과
류희정 · 양미숙 · 김경숙 · 김수정

배경(Background) : 형질세포암(plasma cell neoplasm)은 면역글로불린(immunoglobulin)을 분비하는 최종 분화 단계의 B세포 클론으로부터 발생한 종양이다. 형질세포암에는 형질세포 골수종(plasma cell myeloma), 형질세포종(plasmacytoma), 아밀로이드증(amyloidosis)이 있고, 선행 질환으로는 불분명한 징후의 단클론성 감마글로불린 장애(monoclonal gammopathy of undetermined significance)등이 있다. 형질세포암에서의 유세포 분석은 골수 내 형질세포 수 측정, 진단 및 잔존암 모니터링과 예후판정에 이용할 수 있다. 또한, 최근에 International Myeloma Working Group에서 제시한 stringent complete remission 판정 기준에 유세포 분석이 포함되어 치료효과 판정에 있어서 필수적인 검사가 되었다. 본 연구에서는 6-color 유세포 판넬을 구성하여 형질세포암 환자를 대상으로 검사한 결과를 분석하였다.

방법(Methods) : 2012년 4월에서 10월에 내원한 형질세포 골수종 환자 17명을 대상으로 하였다. European Myeloma Network (EMN) 가이드라인에서 제시한 marker들을 포함하여 CD38/CD138/CD56/CD45 cytoplasmic κ/cytoplasmic λ/CD19/ CD38/CD138/CD45로 두 개의 판넬을 구성하였다. CD38, CD138, CD45를 Gating marker로 사용하여 형질세포수를 측정하였으며 cytoplasmic immunoglobulin (Ig) light chain으로는 클론성을 확인하였다.

결과(Results) : 형질세포수 측정에 있어서 골수도말검사와 유세포 분석 검사를 비교하였을 때 상관계수는 0.81 로 우수하였다($P < 0.001$). CD56의 경우, 17명의 환자 모두에서 양성으로 나타났으며, CD19는 10명(58.8%)에서 음성으로 나타났다. 17명의 환자 모두 cytoplasmic Ig 검사에서 클론성을 보였으며, kappa restricted pattern은 6명, lambda restricted pattern은 11명에서 관찰되었다.

고찰(Discussion) : 형질세포암에 대한 새로운 유세포 판넬 검사를 시행함으로써 형질세포암의 수를 측정할 수 있었고, 비정상적인 형질세포 표현형을 검출하고, 클론성을 확인할 수 있었다. 형질세포암의 유세포 분석을 통하여 진단 및 예후 판정, 치료 모니터링에 유용한 정보를 제공할 수 있을 것으로 생각 되어진다.

포 스 터

HLA-B51 유전자 검사의 양성율 조사와 고찰

삼광의료재단
윤은희

배경(Background) : 베체트병은 조직학적으로 정맥에 혈전 형성을 잘하며 혈관염이 특징적인 질환으로 재발성 구강 및 외음부 궤양 같은 피부증상 및 관절 증상 등 비교적 경미한 증상에서부터 장궤양 및 천공 등의 소화기계 증상, 혈관계 증상 그리고 중추 신경계 침범 등 주요 장기를 침범하는 심한 증상까지 다양하게 유발한다. HLA-B51 유전자는 지금까지 알려진 베체트병과 가장 연관성이 많은 유전인자로 우리나라 베체트병 환자 중 약 50%에서 HLA-B51이 검출되었다. 이에 본원에서는 최근 4년간 본원에 의뢰된 HLA-B51유전자 검사의 양성율을 조사하여 보았다.

방법(Methods) : 2008년 1월에서 2011년 12월까지 HLA-B51 유전자 검사를 의뢰하였던 658개의 EDTA Blood 검체를 Chemagic(chemagen사)자동핵산추출장비를 이용하여 DNA를 추출한 후 중합효소연쇄반응(PCR)법으로 검사한 후 그 증폭산물을 2% agarose gel에 전기영동하여 증폭 유무를 확인하였다.

결과(Results) : 총 658건 중 HLA-B51 양성은 157건으로 23.9% 으로 조사되었으며, 성별에 따른 양성율은 남성 63명(40.1%), 여성 94명(59.9%)로 조사되었다.

고찰(Discussion) : 본 조사에서 HLA-B51은 여성이 남성보다 높은 양성율을 보였으며 이는 우리나라의 베체트병 발생빈도가 남성보다 여성이 높은 것과 상관관계가 있는 것으로 생각된다. 베체트병의 발병 원인이나 기전에 대해 확실히 밝혀지지 않았으나 유전적인 소인이 있는 사람에서 감염 등 환경적인 요인이 면역 반응 이상을 일으켜 질병의 여러 증상이 발현한다고 보고되고 있으며 HLA-B51 유전자는 지금까지 알려진 베체트병과 가장 연관성이 많은 유전자이다. 베체트병은 진단에 결정적으로 도움이 되는 임상증상이나 검사 소견이 없는 실정을 고려할 때 베체트병이 의심되는 환자군에서 HLA-B51 검사의 보조적 진단검사로써의 활용은 가치가 있다고 생각된다.

IUGR(자궁 내 성장지연)로 의뢰된 염색체 검사 결과에 대한 분석 및 고찰

삼광의료재단 세포유전검사팀
김인경 · 정안나 · 석윤미

배경(Background) : 자궁 내 성장지연(IUGR: Intrauterine growth retardation)은 해당 임신 기간에서 출생 체중이 10 백분위수 미만일 경우를 말하며, 특히 3 백분위수 미만인 경우는 심한 발육지연이 있다고 볼 수 있다. 자궁 내 발육지연과 관계된 요인으로는 1)태아측 요인:염색체 이상(예 상염색체 삼체성), 만성태아감염, 선천성 기형-증후군 복합체, 방사선 조사, 다태임신, 췌장 무형성증, 인슐린 결핍, IGF-1 결핍 2)태반측 요인: 태반의 무게나 세포의 감소 또는 겸할 경우, 표면적의 감소, 융모 태반염, 종양, 태반 분리 3)산모측 요인:임신 중독증, 고혈압, 신질환, 저산소증, 영양 결핍 또는 만성 질환, 겸상 적혈구 빈혈, 약물 등이 있다. 이러한 요인들 중 태아측 요인으로 인해 염색체 검사를 시행하게 되며, 본 기관에 IUGR의 소견으로 의뢰된 혈액 염색체 검사 결과를 분석하여 보고하고자 한다.

방법(Methods) : 2010년1월부터 2012년8월까지 IUGR의 소견으로 의뢰된 말초혈액 57건을 대상으로 하였다. 말초혈액을 RPMI1640을 이용한 PHA자극 배양을 72시간 배양하여 0.075M KCL저장액으로 처리하고, Canoy고정액으로 처리하여 slide를 제작하였다. 이 slide를 GTG-banding하여 ISCN2009를 바탕으로 20개의 염색체를 판독하여 나온 결과를 분석하였다.

결과(Results) : 총 57건의 말초 혈액 염색체 검사 중 염색체 이상은 8.7%(5건)에서 나타났고, 나머지 91.3%(52건)는 정상 혈액 염색체 결과를 나타냈다. 염색체 이상의 유형을 살펴보면 47,XY,+21(2건), 47,XYY(1건), 47,XXY(1건), 47,XX,+18[27]/46,XX[3](1건)이었다.

고찰(Discussion) : 보통 태아측 원인으로 자궁 내 발육 지연이 발생하는 경우 예후가 좋지 못하고, 특히 염색체 이상이나 기형 증후군(다운증후군)에 의한 발육 지연이 있을 경우에는 동반 기형이 있을 수 있으며, 앞으로의 성장과 발달에 지속적인 장애가 존재한다고 알려져 있다. 본 검사실에서 분석한 결과 총8.7%의 염색체 이상을 보였고 다운증후군, 성염색체이상 증후군, 에드워드 증후군 순으로 나타났다. 이처럼 IUGR 환자의 진단을 위한 염색체 검사는 반드시 수행하여야 할 필수적인 검사 항목으로 사료된다.

고령 산모의 양수 염색체 검사 결과에 대한 유형 분석

삼광의료재단 세포유전검사팀
김인경 · 정안나 · 석윤미

배경(Background) : 고령 임신은 세계보건기구와 국제산부인과학회에서 초산여부에 관계없이 만 35세가 넘어 임신한 여성을 '고령임산부'라고 정의하고 있다. 그 중에서도 고령의 첫 임신이 문제가 되는 경우가 많다.특히 유산, 사산, 선천성 기형이 40세 이상 고령산모에서 증가된다는 보고가 많은데, 이는 산모의 나이가 증가할수록 모체의 노화로 인해 난자의 염색체에 돌연변이가 생겨 다운증후군과 같은 염색체 이상아를 출산하는 경우가 증가하기 때문이다. 본 기관에서는 35세 이상 고령산모의 양수 염색체 검사 결과에 대해 분석해보고자 한다.
방법(Methods) : 2010년1월부터 2012년8월까지 Elderly gravida의 소견으로 의뢰된 양수 염색체 검사를 대상으로 하였다. In situ 배양법으로 7~10일 배양 후 GTG-banding하여 ISCN 2009를 바탕으로 20개의 염색체를 판독하여 나온 결과를 분석하였다.
결과(Results) : 총 9511건의 양수 염색체 검사 중 4870건(51.2%)이 고령 산모의 양수 염색체 검사였으며 그 중에서 염색체 이상은 110건(2.3%)이었다. 수적이상은 96건(1.9%), 구조적 이상은 14건(0.2%)였다. 염색체 이상에서 수적이상 중 Down syndrome은 53건(1%), Edward syndrome은 18건(0.3%), Patau syndrome은 2건(0.04%)이였으며, 성염색체 이상은 18건(0.3%)으로 나왔다.
고찰(Discussion) : 출산 시 임산부 나이 40세의 다운증후군 발생률은 1000명당 15명, 35세에는 4명, 그리고 33세에는 2명 정도이며, 전체 임산부에서 다운증후군의 발생률은 800-1000명당 1명 정도로 알려져 있다. 이처럼 Down syndrome의 비율이 가장 높이 나타났으며, 그 다음으로 Edward syndrome의 비율 이 높은 것으로 나타났다. 이와 마찬가지로 본 기관에서 분석한 고령산모의 양수 염색체 결과에서 수적이상을 살펴보면 Down syndrome-Edward syndrome의 높은 비율로 나타났다. 또한 양수검사에서 고령산모의 검사비율이 상당히 높았으며, 염색체 이상의 비율이 일반적인 통계보다 좀 더 높게 나타난 것으로 보여진다. 앞으로 고령산모의 비율은 더 높아질 것으로 예측되며, 그에 따른 양수 염색체 검사가 반드시 시행되어져야 한다고 사료된다.

Premature ovarian failure 환자의 염색체 핵형분석 1예

의료법인 삼광의료재단
권지현

배경(Background) : 조기폐경이란 40세 이전에 폐경이 되는 경우로서 전 여성의 1%에서 발생하며, 30세 이전의 경우도 1,000명당 한 명이 발생하는 비교적 흔한 질환으로 알려져 있다. 조기폐경의 원인으로는 자가면역질환, 방사선치료, 항암제 투여, 난소제거, 염색체 이상 외에 원인이 불명인 경우도 많다. 조기폐경의 유전적 요인으로 Turner syndrome과 같이 염색체 이상이 있는 경우가 있다. Turner syndrome은 X 염색체의 수적, 구조적 이상에 의해 유발되는 선천성 유전질환으로 원발성 무월경, 불임, 조기폐경 등의 증상을 보인다. 본 기관에서는 조기폐경을 주소로 의뢰된 말초 혈액 염색체 검사 결과 1예를 보고하고자 한다.

증례(Case) : 2012년 9월 조기폐경으로 염색체 검사가 의뢰된 말초혈액을 PHA가 첨가된 RPMI 1640 배지에 각각 48시간과 72시간 배양한 뒤 GTG-banding 하고, 20개 이상의 metaphase를 관찰하여 얻어진 핵형을 분석하였다. 분석 결과 20 metaphase에서 13, 14번 염색체의 온전한 장완끼리 결합하여 이루어진 der(13;14)(q10;q10)과 Turner syndrome 환자에게서 관찰되는 del(X)(q26)이 복합적으로 나타난 45,X,del(X)(q26),der(13;14)(q10;q10) 핵형이 관찰되었다.

고찰(Discussion) : der(13;14)(q10;q10)의 경우 composite chromosome으로 수 세대를 거쳐 유전될 수 있으며repeated spontaneous abortion과 관련이 있고, 그 밖의 phenotypic effect는 거의 없는 것으로 보고되어 있다. 또 del(X)(q26)은 Turner syndrome 환자에게서 보이는 다양한 핵형 양상 중의 하나로 premature ovarian failure와 연관있는 것으로 보고되어 있다. 따라서 환자에서 나타난 조기폐경의 증상은 두 가지의 abnormal 핵형 중 del(X)(q26)에서 기인된 것으로 사료된다.

sSMC가 발견된 양수 검체의 부모 혈액 염색체 결과 분석

의료법인 삼광의료재단
권지현

배경(Background) : 인간의 정상 염색체 이외에 추가로 나타나는 조그마한 크기의 기원을 알 수 없고 구조적으로 비정상적 형태를 보이는 염색체를 small supernumary marker chromosom (sSMC)라고 한다. sSMC는 주로 고령임신에서 빈번히 발생하며, 신생아의 0.02~0.072% (0.043%), 산전 염색체분석에서는 0.06~0.15% 발견된다. 이러한 sSMC는 23쌍의 모든 염색체에서 유래할 수 있지만 약 80%는 acrocentric 염색체에서 유래하기 때문에 크기가 너무 작아 일반 세포유전학적 검사법으로는 동정이 어려우며, 어떤 유전자를 포함하고 있는지 불확실하여 유전적으로 의미가 없을 수도 있지만, 유전적으로 의미를 부여받는 경우 태아의 기형과 발달 장애 등의 위험도가 높아질 수 있다고 보고되고 있다. 때문에 부모의 혈액으로 세포유전 검사를 실시한 뒤 같은 종류의 sSMC가 발견되는지를 우선적으로 확인하여야 한다. 본 기관에서는 산전 염색체 분석으로 sSMC가 발견된 사례에서 부모의 혈액 염색체 검사를 요청하여 얻어낸 결과를 분석하여 보고하고자 한다.

방법(Methods) : 2008년 1월부터 2012년 9월까지 본원에 의뢰된 양수 검체 중 47,OO,+mar로 보고된 사례 16건 중 7건의 부모 혈액 염색체 검사를 시행하였다. 검사방법은 PHA를 첨가한 RPMI 배지에 각각 48시간과 72시간 배양한 뒤 GTG-banding 하고, 20개 이상의 metaphase를 관찰하여 얻어진 핵형을 분석하였다.

결과(Results) : 총 7건의 부모 말초혈액 염색체 핵형을 분석한 결과, sSMC가 부모에게서 유전되었음이 확인된 결과가 47,OO,+mar pat 1건, 47,OO,+mar mat 3건으로 총 4건이었고 나머지 3건은 47,OO,+mar dn(de novo)로 나타났다.

고찰(Discussion) : 보고된 통계상 de novo(new mutation)는 70% 정도이나 본 기관에서는 de novo 결과보다 부모에게서 유전이 확인된 결과가 더 많은 비율을 차지하였다. 그러나 이는 통계적으로 분석하기엔 sSMC가 발견된 양수 결과 건수에 비해 부모 혈액검사 의뢰 건수가 부족하여 일치할 수 없었던 것으로 사료된다. sSMC가 가족적인 유전으로 확인되고 가계 내에서 특별한 기형이 없다면 기형의 위험은 증가하지 않지만, de novo로 나타난 경우에는 marker 염색체가 몇 번에서 기원한 것인지, 기존에 알려진 증례가 있는지에 따라 표현형에 미치는 영향을 예상할 수 있으므로 multiplex를 이용해 일회의 검사로 여러 유전자의 정확한 기원을 알 수 있는 SKY(spectral karyotyping technique)나 array CGH등과 같은 분자유전학적 검사 방법이 요구되며, 일차적으로 부모의 혈액 염색체 검사가 필수적으로 시행되어야 할 것이다.

산모들의 *MTHFR* C677T 유전자 단일염기 다형성의 빈도

의료법인 삼광의료재단
진한울

배경(Background) : 호모시스테인은 혈액 속에서 동맥벽에 지방을 축적시켜 심장질환과 뇌졸중 뿐 아니라 임산부에서는 자간전증을 발생시켜 태아의 건강에 문제를 일으키는 물질로 알려져 있다. 임신기간 동안 엽산과 비타민 B12의 저농도 상태는 *MTHFR* 유전자 변이와 상호작용하여 호모시스테인 농도를 높여 태아 또는 태반의 세포 성장과 재생에 장애를 초래하여 조기분만 및 자궁내 발육지연을 일으킬 수 있다고 보고되고 있다. 고호모시스테인혈증은 호모시스테인 대사과정 중의 재메틸화 또는 황전환작용에 영향을 주는 유전적 요인 및 환경적 요인에 의해 영향을 받을 수 있다. 이와 관계된 유전자 중 methylentetrahydrofolate reductase *(MTHFR)* 유전자의 C677T 다형성이 임산부 자간전증 발생에 있어 광범위하게 연구되었다. 이에 본원에서는 산모에서 *MTHFR* C677T 다형성의 빈도를 조사해 보았다..
방법(Methods) : 2010년 10월부터 2012년 9월까지 최근 2년간 본원에 의뢰된 *MTHFR* C677T 유전자형 검사 525건을 대상으로 하였다. 검체는 Chemagic DNA/RNA kit (Chemagen, Germany)를 이용하여 DNA 추출을 시행하였고 자체개발한 primer를 사용하여 polymerase chain reaction (PCR)로 증폭하였다. 증폭된 PCR 산물을 제한효소로 절단하여 전기영동으로 확인하였다
결과(Results) : 임산부 525명의 *MTHFR* C677T 유전자형 검사결과, CC 유전자형이 159건 (30.29%), CT 유전자형이 269건 (51.24%), TT 유전자형이 97건(18.48%)로 조사되었다.
고찰(Discussion) : 많은 연구결과에서 *MTHFR* C677T 유전자형 중 CT/TT 유전자형은 높은 혈장 내 호모시스테인 농도와 관련이 있으며 TT 유전자형을 가진 사람이 낮은 엽산농도를 동반하고 있을 때 고호모시스테인 혈증이 더욱 심화된다고 보고되었다. 그러나, C677T 변이가 있더라도 비타민 B군과 엽산의 섭취상태가 좋은 임산부인 경우에는 호모시스테인의 농도가 낮은 것으로 보고되었다. 따라서, 임신 시 *MTHFR* C677T 유전자형 검사 결과에 따라 엽산과 비타민 B군의 영양상태를 조절하는 것이 임신 합병증 예방에 도움이 될 것으로 생각된다.

자연유산으로 의뢰된 수태산물 염색체 검사결과의 유형

삼광의료재단 세포유전검사팀
권윤정

배경(Background) : 자연유산이란 임신 20주 이전에 자연적으로 임신이 소실되는 것을 말하며 자연 유산의 80% 이상이 임신 첫 12주 이내에 일어난다. 자연유산의 가장 흔한 원인은 50-60%이 염색체 이상으로 자연유산에 의한 수태산물 염색체 분석은 유전상담 및 치료에 유용한 정보를 제공한다. 따라서 본 검사실에 의뢰된 수태산물의 염색체 검사 결과의 유형을 분석해 보았다.

방법(Methods) : 2011년 10월 ~2012년 9월까지 자연유산으로 의뢰된 총 88건의 수태산물 염색체 검사 결과를 분석해 보았다. Cytogen Amniogrow media로 long culture 배양, GTG banding으로 검사하였다.

결과(Results) : 총 88건의 수태산물 염색체 검사 중 염색체 이상은 40.9%(36건)에서 나타났다. 그 중 수적이상이 97.2%(35건)로 대부분을 차지하였고, 수적 이상 중에는 상염색체의 삼염색체가 80%였고, 그 종류는 2번, 4번, 6번, 8번, 9번, 10번, 13번, 14번, 15번, 16번, 21번, 22번으로 다양하게 나타났으며, 이중 22번 삼염색체가 21.4%로 가장 많았다. X 단일염색체가 11.4%, 다 배수성은 8.6%를 차지하였다. 구조적 이상은 2.8%(1건)로 add(14)가 포함된 Mosaicism이었다.

고찰(Discussion) : 자연유산의 원인은 불분명한 경우가 가장 많고 면역학적 요인, 환경오염, 태아감염 등 여러 가지 원인이 있다. 또한 비정상 핵형의 산모나이를 살펴보면 평균 38.7세로 고령산모인 경우 자연유산의 원인이 될 것으로 생각된다. 12주 이내의 자연 유산의 50%이상이 태아의 염색체 이상에 기인한 것으로 알려져 있기 때문에 자연 유산에 의한 세포유전학적 검사는 환자들의 상담 및 치료에 유용한 정보를 제공할 것으로 생각된다.

Patau, Edward, Down Syndrome에서의 산모의 나이 유형

삼광의료재단 세포유전검사팀
권윤정

배경(Background) : 생물학적으로는 일찍 임신하고 출산해야 건강한 아기를 얻을 수 있고 산모의 건강적인 측면에서도 유리하다. 산모의 나이가 많아질수록 난자의 노화 탓에 임신율이 떨어지고 착상이 점점 어려워져 유산율이 높으며 임신이 유지되더라도 염색체 이상이 발생할 확률이 높기 때문이다. 그러나 사회 구조상 고령산모들이 늘어나면서 양수 검사를 해야 하는 산모들이 증가하는 추세이다. 이에 양수 검사 결과가 13번, 18번, 21번 염색체가 삼염색체로 비정상 핵형을 가진 산모들의 나이 유형을 알아보았다.

방법(Methods) : 2010년 1월 ~2012년 9월까지 Patau, Edward, Down Syndrome으로 나온 총 154건의 양수 검사결과의 산모들의 나이 유형 분석하였다. Cytogen Amniogrow media로 in situ culture 배양, GTG banding으로 검사하였다.

결과(Results) : 총 154건의 양수 검사 결과에 따른 산모나이는Patau syndrome(13번 삼염색체)으로 결과가 나온 산모의 나이는 25-29세가 20%(1/5), 30-34세 20%(1/5), 35-39세 40%(2/5), 40-45세 20%(1/5)이고,Edward syndrome(18번 삼염색체)으로 양수 검사 결과가 나온 산모의 나이는 25-29세가 17.9%(7/39), 30-34세가 28.2%(11/39), 35-39세가 33.3%(13/39), 40-45세가 20.5%(8/39)였다.Down Syndrome(21번 삼염색체)으로 양수 검사 결과가 나온 산모의 나이는 25-29세가 12.7%(14/110), 30-34세가 35.4%(39/110), 35-39세가 40.9%(45/110), 40-45세가 10.9%(12/110)였다.

고찰(Discussion) : 전반적으로 교육과 취업 준비로 결혼이 늦어지면서 임신과 출산시기가 고령화되어 산모들에게 여러 가지 위험 가능성이 높아지고 있다. 산모의 나이가 많아질수록 임신성 고혈압, 당뇨, 조산, 유산, 기형아 출산 등 임신관련 질환에 걸릴 위험이 높고 고령으로 인한 난자/세포의 노화는 태아에게도 영향을 줄 수 있기 때문에 만35세 이전에 출산을 하는 것이 바람직하겠다.

혈액 종양에서 관찰되는 Y 염색체 소실

삼광의료재단 세포유전검사팀
권윤정

배경(Background) : Y 염색체 소실은 노화 현상 중 하나로 관찰될 수 있으며, 혈액 종양과 연관되어 관찰될 수 있는 염색체 이상 중 하나이다. Y 염색체가 소실된 세포비율을 연구한 문헌에 따르면, 중기세포에서 Y 염색체 소실이 75%이하이면 질환과의 관련성은 불확실하고, 75~100%라면 나이와 무관하게 혈액 종양과 연관된 클론성 염색체 이상일 가능성이 높다고 알려져 있다. 이에 본 검사실에서는 혈액종양으로 골수 염색체 검사를 의뢰한 환자들의 Y 염색체 소실 비율을 관찰하고 그에 따른 질환별 상관관계를 알아보았다.

방법(Methods) : 2009년 4월~2012년 4월까지 골수 염색체 검사 결과 중 Y 염색체 소실이 있는 76명의 혈액 종양 환자들을 대상으로 하였다. mitogen이 첨가되지 않은 RPMI 1640 media에 2시간, 24시간 배양하여 GTG-Banding법으로 검사하였다.

결과(Results) : 혈액 종양으로 의뢰된 골수 검체 중 Y 염색체 소실의 결과를 가진 환자는 총 76명이었다. 이 중 75%이상에서 Y 염색체 소실을 나타내는 환자는 15명으로 19.7%였다. 이 중 만성 골수성 백혈병은 3명으로 20%, 골수 이형성 증후군은 1명으로 6.7%, 급성 골수성 백혈병은 3명으로 20%, 다발성 골수종은 3명으로 20%, 재생불량성 빈혈, 만성 림프구성 백혈병, 철결핍성 빈혈, 폐암, 특발성 혈소판 감소성 자반증이 각각 1명씩으로 6.7%였다. 또한, 90%이상에서 Y 염색체 소실을 나타내는 환자는 7명으로 그 중 6명이 t(8;21) 또는 t(9;22) 또는 t(15;17) 또는 복잡한 핵형과 동반되어 나타났고 1명은 Y 염색체 소실 단독 염색체 이상으로 관찰되었다.

고찰(Discussion) : 한 문헌에서는 성 염색체 소실은 혈액 종양과 연관되어 관찰될 수 있는 염색체 이상 중 하나이며, 혈액 종양 환자 중 3~10%에서 Y 염색체 소실이 관찰되었다고 보고하였다. 또한 다른 염색체 이상없이 Y 염색체 소실이 단독 이상으로 관찰되었던 빈도는 2~10%, 다른 염색체 이상에 동반되어 이차성으로 Y 염색체 소실이 관찰되었던 경우는 1~4%로 보고하여, 단독 염색체 이상으로 관찰되는 빈도가 약간 더 높았다. 다른 문헌에서는 골수 증식종양 중에서 만성 골수성 백혈병은10%, 골수 이형성 증후군은 9.5%, 급성 골수성 백혈병은 3.2%에서 염색체 소실이 발견되었고 림프계 종양에서는 발견하기 어렵다라고 하였다. 그러나 본 검사실에서는 만성 골수성 백혈병과 급성 골수성 백혈병에서는 약간 높은 수치를 나타내었고, 골수 이형성 증후군은 비슷한 수치를 나타냈으며 만성 림프구성 백혈병에서도 1명이 발견되었다. 또한Y 염색체가 90%이상 세포에서 소실되었던 혈액 종양 환자는 t(8;21) 또는 t(9;22)염색체 이상이 동반되었던 환자가 많았다고 보고하였다. 위의 결과를 살펴보면 본 검사실에서도 t(8;21), t(9;22), t(15;17)와 같은 염색체 이상이 동반되어 있는 경우 Y 염색체가 소실되는 세포 비율이 높음을 알 수 있다.

조기폐경 의심 환자의 핵형 결과 46,X,idic(X)(q27) 1례

삼광의료재단 세포유전 검사팀
김진현

배경(Background) : 조기 폐경이란 40세 이전에 폐경이 되는 경우로서 전 여성의 1%정도에서 발생하며, 30세 이전의 경우도 1,000명당 한 명 꼴로 발생하는 비교적 흔한 질환이다. 조기 폐경의 유전적 요인에는 터너 증후군이나 염색체 이상이 있는 경우가 있다. 본 기관에 의뢰된 30세 조기 폐경 의심 환자의 말초 혈액 염색체 검사에서 46,X,idic(X)(q27)으로 판독된 case가 있어 증례 보고 하고자 한다.

방법(Method) :

1) 검 체: 30세 조기폐경 의심 환자의 말초 혈액
2) 배 지: RPMI 1640 media
3) 분열자극제: phytohemaggutin
4) 배양 시간 : 72시간
5) 염 색 대: GTG-Banding
6) 핵형분석수: 20 metaphase

결과(Case) : 30세 조기 폐경 의심 환자의 말초 혈액을 RPMI 1640 media에 phytohemaggutin을 첨가하여 72시간 배양한 후 GTG-banding하여 20 metaphase를 분석하였다. 20 metaphase에서 온전한 X 염색체 하나와 두 개의 X 염색체가 Xq27 부분에서 결합된 idic(X)가 함께 발견된 46,X,idic(X)(q27) 핵형이 관찰되었다.

고찰(Discussion) : Isodicentric X chromosome 은 두 개의 X 염색체가 결합하여 발생하며 phenotypic effect는 단완과 장완 중 어디에서 접합되느냐 혹은 어느 부분이 deletion 되었느냐에 따라 다양하게 나타날 수 있다. 단완에서 접합된 idic(X)는 short 또는 normal stature, gonadal dysgenesis와 때때로 Turner Syndrome의 특징을 갖는다. 장완에서 접합된 idic(X)는 정상 또는 평균이상의 신장과 정상 지능을 갖고 다른 somatic abnormalities도 없으나 gonadal dysgenesis는 나타날 수 있는 것으로 보고되어 있다. 본 증례는 X의 장완 q27 부분에서 isodicentric된 경우로 외형적으로 나타나는 abnormality는 없었으나 idic(X)으로 인한 조기 폐경이 일어난 것으로 사료된다.

참고문헌 :

- Reynolds, J.F., Daniel, A., Kelly, T.E., et al. (1987) Isochromosome 12p mosaicism (Pallister mosaic aneuploidy or Pallister-Killian syndrome): report of 11 cases. *Am. J. Med. Genet.* **27**, 257~274.
- Wenger, S.L., Steele, M.W., and Yu, W.D. (1988) Risk effect of maternal age in Pallister i (12p) syndrome. *Clin. Genet.* **34**, 181~184.
- Schubert, R., Viersbach, R., Eggermann, T., Hansmann, M., and Schwanitz, G. (1997) Report of two new cases of Pallister-Killian syndrome confirmed by FISH: tissue-specific mosaicism and loss of i(12p) by in vitro selection. *Am. J. Med. Genet.* **72**, 106~110.

PCR & Sequencing 법을 이용한 글리벡 내성 유전자 변이 통계 조사

녹십자 의료재단
방성희 · 전희선 · 김윤경 · 조은해

배경(Background) : 글리벡이라고 알려진 Imatinib mesylate (Signal Transduction Inhibitor, STI-571, Gleevec^{TM})는 만성 골수성 백혈병(chronic myelogenous leukemia, CML)의 원인인 Philadelphia chromosome에 의해 생성되는 BCR-ABL1 tyrosine kinase의 저해제로서, 지속 투여시 abl kinase 유전자에 다수의 돌연변이를 유발하게 되며, 그 중에서도 인산화 효소의 ATP-binding 부위의 Y253F, Imatinib binding domain T315I 등은 약제내성과 관련된 주요 돌연변이로 알려져 있다. 이러한 돌연변이는 약제내성으로 인해 치료 실패 내지는 재발로 이어지게 되므로 유전자 변이 검사를 통해 Imatinib의 치료 경과 모니터링 및 치료 방침 점검이 가능하다.

방법(Methods) : 2010년 1월부터 2012년 9월 까지 글리벡내성유전자(Sequencing)로 본원에 의뢰된 315건의 임상검체(골수 또는 말초혈액)에서 환자 검체로부터 백혈구를 분리하여 RNA를 추출한 후 이를 근거로 cDNA를 합성한다. c-ABL의 exon 4에 위치한 forward primer로 5'-CGCAACAAGCCCACTGTCT-3'를, c-ABL의 exon 9와 10에 위치한 reverse primer로 5'-TCCACTTCGTCTGAGATACTGGATT-3' 를 Biometra T3000 장비를 이용하여 PCR 진행 사용한 863bp의 PCR product를 Chemagen Chemagic MSM 기기를 이용하여 PCR Product Purification 후 Sequencing용 PCR Reaction, Dye removal method after Sequencing Reaction 과정을 거친 후 ABI 3130x1 자동핵산추출장비를 이용하여 직접염기서열분석을 시행하여 얻어진 염기서열을 분석하여 reference와 비교하여 그 내성 유전자 유무를 검사하였다.

결과(Results) : 임상 소견을 가지고 글리벡내성유전자(Sequencing)로 의뢰된 임상검체 315건으로 글리벡 내성 유전자 검사 결과의 통계분석 결과, Detected 49건(16.72%), Not Detected 244건(83.28%), Not Applicable 22건(BCR/ABL1 음성으로 %에서 제외)으로 나타났다.
검출된 글리벡 내성 유전자는 모두 점 돌연변이로 T315I Point Mutation 이 14건(28.57%)으로 가장 많은 분포를 나타냈고 다음으로 E255K 7건(14.29%), G250E/ Y253H/ F317L 각 5건(10.20%), H396R 3건(6.12%), M244V/ M351T/ F359V/ L273M/ E275K/ F311I/ V379I 등이 1-2건의 빈도로 다양하게 검출되었다. 본원 통계 조사 상 2011년에 L273M/ E275K, 2012년에 F311I/ V379I 점 돌연변이가 추가로 발견된 것을 확인 할 수 있었다.

고찰(Discussion) : 본 통계 결과 글리벡 내성 유전자 변이를 검사, 분석한 결과 Detected 17%로 글리벡 내성으로 알려진 전체 환자의 약 20%에는 못 미치는 근소한 차이를 보였으나, T315I 돌연변이는 29%로 알려진 바와 같이 가장 많은 내성 유전자형으로 나타났으며, 이외 다른 다양한 돌연변이 등도 검출이 되고 있는 것으로 조사되었다. 향후 더 다양한 돌연변이들이 검출 될 것으로 보인다. 글리벡내성유전자(Sequencing) 검사를 통해서 Imatinib의 치료 경과 모니터링 및 치료 방침 점검에 적극 활용되어져야 할 것으로 사료된다.

BCR-ABL IS 정량검사 소개

의료법인 녹십자의료재단 인간유전체팀
전희선

배경(Background) : BCR-ABL결합유전자는 22번 염색체 장완의 BCR (Breakpoint Cluster Region)과 9번 염색체 장완의c-ABL oncogene의 균형 전좌에 의해 발생한다. BCR-ABL은 주로 2개의 Junction variant인 b2a2(40%) 또는 b3a2(55%)로 전사되는데 이는 p210이라는 Chimeric protein을 생성하여 증가된 Tyrosine Kinase activity를 가진다. 현재 Imatinib과 같은 Tyrosine Kinase inhibitor의 개발로 많은 환자들이 완전 관해(Remissin)상태를 장기간 유지할 수 있게 되었다. BCR-ABL 실시간 정량 검사는 BCR-ABL Major b2a2,b3a2를 정량화하여 치료중인 CML 환자의 경과를 추적 관찰하는데 중요한 진단 방법이다. 이 검사는 기존의 염색체 검사보다 매우 민감하여 십만개의 정상세포 중 단 한 개의 CML 암세포를 발견할 수 있다. 그러나 BCR-ABL 정량검사의 결과는 검사를 시행하는 검사실마다 사용하는 실시간 정량 검사 방법 간의 차이로 인해 결과 값의 차이가 있다. 이렇게 다른 각 검사실간의 검사결과 비교를 위하여 IS(International Scale)가 도입 되었다.

방법(Methods) : 본원에 의뢰된 Real Time BCR-ABL 정량 검사 sample 58건을 대상으로 실험을 진행하였다. QIAampâ RNA Blood Mini Kit(Qiagene,USA) 를 사용하여 RNA를 추출한 뒤 cDNA를 합성하여 준비하고, BCR-ABL Mbcr IS-MMR Kit (Ipsogen, France) 시약을 이용하여, LightCycler 480 장비에 Real Time PCR을 진행하였다.

결과(Results) : 기존에 알고 있던 Real Time BCR-ABL 정량 검사 결과와 비교하였을 때 BCR-ABL/ABL ratio값이 검출된 결과를 보인 sample에서는 Real Time BCR-ABL IS 정량검사에서도 동일하게 IS conversion값을 보이는 결과가 나왔다.

고찰(Discussion) : BCR-ABL Mbcr IS-MMR Kit (Ipsogen, France) 시약은 WHO의 생물학적 표준 전문 위원회에서 승인한 표준물질을 이용하여 만든 시약으로, 검사시 농도를 알고 있는 표준물질 외에 IS-MMR calibrator를 같이 검사하여 정확한 IS값을 도출할 수 있다. BCR-ABL(IS) 보고방법은 검사결과의 국제적 신뢰도를 향상시켜 약물반응에 관한 표준화된 환자 관리 및 학술연구에 도움이 될 것으로 사료된다.

습관성유산 환자의 증가 추세와 염색체이상의 분포

삼광의료재단
박영주

배경(Background) : 습관성 유산은 임신이 된 후 20주 이전에 자연유산이 세 번 이상 연속으로 발생하는 경우를 말하며 발병률이 높고 해마다 증가하고 있는 추세이다. 국민건강보험공단의 통계에 따르면 임산부의 20%가 유산을 경험한 적이 있고 그 중 3명 가운데 1명은 습관성 유산이라고 한다. 이에 습관성유산 환자의 발병률 추세와 습관성 유산의 원인은 다양하지만 그중 염색체 이상을 가진 환자의 빈도와 그 유형을 확인해보고자 한다.

방법(Methods) : 2010년 1월부터 2012년 9월까지 약 3년간 본원에 습관성유산으로 수탁의뢰된 말초혈액 2174예로 검사하였다. 말초혈액 염색체 검사방법은 분열자극제 PHA가 첨가된 RPMI 1640 media를 사용하여 48시간, 72시간 배양후 세포수거하기 1시간 전에 colcemid를 처리한 후 저장 처리(0.075M KCl), 고정단계(methanol:acetic acid=3:1)를 거쳐 슬라이드를 제작 후 GTG 분염법으로 염색하여 20개 이상의 metaphase를 분석하였다.

결과(Results) : 말초혈액이 의뢰된 환자중 습관성 유산으로 의뢰된 환자는 2010년 536예(42.2%), 2011년에는 733예(45.1%), 2012년(1월~9월)에는 905예(49.2%)이며 습관성 유산으로 의뢰된 환자의 염색체 이상의 빈도는 2010년에는 12예(2.2%), 2011년에는 19예(2.5%), 2012년에는 24예(2.6%)를 보였다. 습관성유산 환자의 55예(2.5%)에서 비정상 핵형을 보였으며, 그 분포는 translocation은 38예(1.7%), derivative는 12예(0.5%), inversion은 3예(0.1%), inversion과 translocation이 함께 있는 1예(0.04%), i(X)(q10)을 나타낸 1예(0.04%)가 있었다.

고찰(Discussion) : 습관성 유산으로 의뢰되는 환자는 해마다 증가되는 추세에 있으며 2011년에는 2.9% 증가하였고, 2012년에는 4.1% 증가하였다. 또한 염색체 이상 빈도도 2011년에는 0.3%, 2012년에는 0.1% 증가하였다. 염색체 이상은 traslocation이 38예(69%)로 가장 많았으며, 그다음 derivartive 12예(21.8%), inversion이 3예(5.4%), 기타가 2예(3.8%)가 있었다. 습관성 유산 환자가 매년 증가함에 따라 염색체 검사를 시행하면 유전 상담에 도움이 될 것으로 사료된다.

양수 검체 상태에 따른 검사 소요일

삼광의료재단
박영주

배경(Background) : 양수 염색체 검사는 보통 16~18주 될 때 양수를 채취하여 검사를 실시한다. 양수는 보통 맑은 소변과 비슷한 색을 띤다. 의뢰되는 양수중 탁하여 Bloody하거나 Dark Brown 색을 띠는 경우가 있는데 이럴 경우 양수를 배양하여 염색체를 얻기까지의 소요 시간이 길어진다. 양수검체 상태가 검사 소요시간에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

방법(Methods) : 본원에 의뢰되는 양수는 상태를 관찰하여 기록하는데 양수 색깔은 육안으로 관찰하고 cell의 상태는 cell의 양과 Blood가 섞여있는 정도를 centrifuse에 돌려 가라앉아 있는 cell을 관찰한다. 2011년 1월부터 2012년 8월까지 의뢰된 양수중 양수의 상태가 Blood가 심하게 섞여있는 경우, Dark Brown인 경우, 양호한 상태인 경우 세가지 경우에 속하는 5008건의 양수염색체 검사의 검사소요시간을 알아보았다. 양수 염색체 검사는 Cytogen을 사용하여 37℃, 5% CO_2 Incubator에서 In citu법 or Flask법으로 배양하였으며, 세포수거하기 1시간 전에 colcemid를 처리한 후 저장 처리(0.075M KCl), 고정단계(methanol:acetic acid=3;1)를 거쳐 슬라이드를 제작 후 GTG 분염법을 시행하여 20개 이상의 metaphase를 분석하였다.

결과(Results) : Blood가 심하게 섞여있는 99건의 양수검체의 평균 검사소요일은 15.6일 이었으며, Dark Brown을 띠는 양수152건은 14.4일, 상태가 양호한 양수 4757건은 13.2일 정도가 소요되었다.

고찰(Discussion) : 본원에 의뢰된 양수의 검체 상태에 따른 검사 소요일은 정상 검체에 비해 Blood가 섞인 검체나 Dark brown 검체가 소요시간이 지연되는 것으로 나타났으며, 그중 Blood가 섞인 검체는 검사 소요시간이 가장 긴 것으로 확인되었다. 양수속의 태아세포는 다른 이물질이 함께 있으면 태아 세포들이 자라는데 방해가 되어 배양시간이 길어지는 것으로 사료된다. 양수 채취시 섞이는 Blood는 검사 소요시간을 지연시키므로 양수 채취시 Blood가 섞이지 않도록 주의해야 하며 좋은 상태의 양수 세포는 결과를 기다리는 산모들에게 심리적 도움이 될 것으로 사료된다.

Marker chromosome의 기원을 알아본 증례 보고 (2예)

삼광의료재단
박영주

배경(Background)： Marker chromosome은 기원을 알 수 없는 구조적 비정상 염색체이며, 과거 보고에 의하면 그 발생율은 0.6~1.5/1000이다. 주로 고령임신에서 빈번히 발생하며, Marker 염색체는 기형과 발달 장애 등과 관련이 있으므로 그 기원을 확인하는 것이 중요하다. Marker의 기원을 알아보기 위해서 부모의 혈액 염색체 검사를 권하여 시행하였고 의뢰된 태아의 Marker 염색체가 혹여 21번 염색체에서 유래되었는지 확인하고자 FISH 검사를 시행해 보았다.

증례(Case)：

증례 1
Down syndrome screen(+)로 2011년 6월 의뢰
태아 염색체 결과 : 47,XX,+mar
모친의 혈액 염색체결과 : 46,XX
부친의 혈액 염색체 결과 : 46,XY
부모검사한 결과 태아 염색체 결과 : 47,XX,+mar dn
태아 FISH 검사 결과 : nuc ish 21q22(D21S259,D21S341,D21S342)×2
증례 2
Down syndrome screen(+)로 2012년 9월 의뢰
태아 염색체 결과 : 47,XY,+mar
모친의 혈액 염색체 결과 : 46,XX
부친의 혈액 염색체 결과 : 46,XY,+mar
부모검사한 결과 태아 염색체 결과 : 47,XY,+mar pat
태아 FISH 검사 결과 : nuc ish 21q22(D21S259,D21S341,D21S342)×2

고찰(Discussion)： Down syndrome screen(+)로 의뢰된 각각 다른 두 태아의 염색체 결과는 육안으로 Marker의 모양이 유사해 보였으며, 부모의 혈액 염색체 결과를 확인한 결과 한 태아는 부친에게 받았으며, 다른 태아는 부모로부터 유전되지 않았다. 태아의 염색체 검사 결과 Marker chromosome이 나올 경우 부모로부터 유래되어 유전이 확인된 경우는 특별히 임상적 문제가 없었다면 기형의 위험은 낮지만, 그렇지 않을 경우 그 기원을 알 수 없어 태아의 예후를 예측하기 어려워 유전상담에 한계가 있다. Marker chromosome이 나올 경우 먼저 부모의 혈액 염색체 검사를 반드시 시행하여 유전의 유무를 확인하고 de novo인 경우는 microarray나 SKY(Spectral Karyotyping Technigue)법으로 Marker 염색체의 기원을 확인하는 것이 필요하다.

선천성 난청을 유발하는 *GJB2* 유전자 돌연변이 빈도

의료법인 삼광의료재단
이연주

배경(Background) : 선천성 난청(congenital hearing loss)은 선천성 장애 중 가장 흔한 것으로 신생아 500명당 1명의 빈도로 발생한다. 난청은 조기에 진단하여 적극적으로 치료하는 것이 청각 회복에 중요하므로 출생 3개월 이내에 모든 신생아에게 난청선별검사를 권장하고 있어 전체 신생아의 70% 정도가 관련 검사를 받고 있다. 유전성 소아 난청의 경우 약 40%에서 *GJB2* 유전자 변이가 원인인 것으로 알려져 있어 유전자검사를 통한 신생아 난청 선별 및 산전 예측이 가능하다. 이에 본원에서는 선천성 난청 유전자의 돌연변이를 조사하여 그 빈도를 살펴보았다.

방법(Methods) : 2010년 8월부터 2012년 7월까지 최근 2년간 본원에 의뢰된 선천성 난청 유전자*(GJB2* gene*)*검사 306건을 대상으로 하였다. 신생아 혈액여지를 전처리 후 Chemagic DNA/RNA kit (Chemagen, Germany)로 DNA 추출을 시행하였고 자체개발한 primer를 사용하여 polymerase chain reaction (PCR)로 증폭하였다. 증폭된 PCR 산물을 정제하고, 염기서열분석(direct sequencing)을 시행하여 유전자 변이 여부를 확인하였다.

결과(Results) : 전체 306건 중 염기변이가 검출된 건수는 총 206건(67.32%) 이였으며 이 중 단일 염기 다형성인 경우가 186건(90.29%), 돌연변이가 검출된 건수는 20건(9.7%)이었다. 발견된 돌연변이의 빈도는 c.235delC가 8건(3.88%)으로 가장 많았고, 그 다음으로 T123N (c.368C>A) 5건(2.43%), V37I(c.109G>A) 4건(1.94%)순이었으며, T186T(c.558G>A), C202* (c.560_605dupC>A), 235delC와 V37I(c.109G>A)이 함께 검출된 것이 각 1건씩이었다. 단일 염기 다형성중에는 V27I(c.79G>A)가 172건(83.5%)으로 가장 많았고 대부분 E114G(341A>G)와 함께 검출되었다. I203T(c.608T>C) 단일 염기 다형성은 14건(6.8%)로 조사되었고 E114G (c.341A>G) 단독으로 나온 경우는 없었다.

고찰(Discussion) : 조사 결과 전체 306건 중에서 돌연변이가 발견된 경우는 20건(6.54%)이고 이 중 선천성 난청의 증상이 있는 경우는 c.235delC와 V37I(c.109G>A)이 함께 검출된 1건(0.33%)으로 나타나 1000명중 3-4명이 *GJB2* 유전자 돌연변이에 의한 난청인 것으로 예상할 수 있었다. 유전성 난청은 출생 직후, 또는 늦어도 출생 6개월 이전에 발견하여 재활 치료를 받는 경우에, 정상에 근사한 어휘력을 획득할 수 있게 하여 학습능력 발달장애를 예방할 수 있으며, 환아의 정상적 사회 적응을 용이하게 함으로써 질환에 따른 사회적 비용을 크게 경감시킬 수 있다. 선천성 난청을 조기에 발견하여 치료 시기를 앞당겨 줌으로써 치료 및 재활 효과를 극대화 시키는 것이 필요하겠다.

혈액 질환별 염색체 핵형분석과 임상적 의의

네오딘의학연구소 유전체연구센터
임경옥 · 송지원 · 이현정 · 최수현 · 한재이 · 신은심

배경(Background) : 혈액 질환에서 염색체 핵형분석은 특정 질환과의 연관성을 확인할 수 있어 진단과 치료의 목적으로 사용되고 있다. 핵형분석을 통하여 혈액 질환의 원인과 발생에 연관된 염색체 변이에 대한 증명이 가능하고, 이에 따라 치료방침을 결정하는데 활용되고 있으며, 나아가 치료효과 및 질환의 추적관찰이 가능하여, 예후 관찰에도 도움을 주고 있다. 또한, 핵형분석을 통한 다양한 염색체의 이상 결과와 각 질환과의 연관성을 파악할 수 있어, 혈액 질환과 염색체 이상의 종류와 빈도에 대한 통계적 수치를 확립하고, 각 혈액 질환과 염색체 핵형과의 연관성을 정리하여 이를 보고하고자 한다.

방법(Methods) : 2011년 8월부터 2012년 8월까지 본원에 의뢰된 골수검체 336건에 대해 분석하였다. 염색체 핵형분석을 위해, 임상증상에 따라 24시간 배양을 하거나, 72시간 배양하여 염색체를 수확하였다. 수확을 마친 후, 슬라이드를 제작하여 GTG-분염법으로 염색하여 20개의 분열 중기세포를 분석하였다.

결과(Results) : 2011년 8월부터 2012년 8월까지 시행된 336건의 골수 검체에 대한 염색체 핵형분석에 대하여, 각 증례별로 의뢰된 환자의 임상 증상을 혈액 질환의 종류별로 구분하였고, 이에 따라 분석된 염색체 핵형의 종류와 빈도를 분석하였다. 336건의 골수 염색체 분석 결과, Lymphoma 12.8%, thrombocytopenia 6.5%, MM (multiple myeloma) 5.6%, Anemia 5.1%, MDS (myelodysplastc syndrome) 3.6%, DLBL(diffuse large-B cell lymphoma) 3.6%, CML (chronic myeloid leukemia) 2.4%, AML (acute myeloid leukemia) 1.5%, ITP(idiopathic thrombocytopenia) 1.2% 등으로 혈액 질환이 구분되었다. 또한, 염색체 핵형 분석결과, 83%에서 염색체 이상이 확인이 되지 않았으며, 염색체 이상이 확인된 17% 중, CML을 임상증상으로 가진 증례 62.5%에서 t(9;22)가 관찰되었고, AML의 60%에서 t(8;21)가 확인되었으며, MM은 염색체 이상이 관찰되지 않고 정상세포만 분석되었다.

결론(Discussion) : 혈액 질환을 진단하기 위한, 골수 검체의 염색체 핵형 분석은 임상 증상에 따른 적절한 배양 방법의 선택과 그에 따른 염색체 핵형분석의 해석이 무엇보다도 중요하다고 할 수 있다. 또한, 환자의 임상증상이나 추정진단에 대한 정보와 함께 염색체 핵형분석을 시행할 경우, 보다 정확한 진단을 얻을 수 있다. 백혈병과 골수형성이상증후군, 골수증식종양, 림프계 악성 종양 등 대부분의 혈액종양은 염색체 이상을 동반하고, 그중 일부는 특정한 혈액종양에 특이하게 나타나거나 밀접하게 연관되어 있고 독특한 생물학적 특징을 보인다. 따라서, 본 연구의 분석결과와 같은 임상증상에 따른 염색체 핵형분석의 분석은, 한국인의 혈액 질환에서의 염색체 이상을 이해하고 해석하기 위한 중요한 자료로 사료된다.

Jacobsen syndrome을 보이는 환자의 핵형 분석과 임상적 특징 고찰

서울아산병원
권은미

Clinical Characterization of Patients with Distal 11q Deletions (Jacobsen syndrome)

Kwon Eun-Mi

배경(Background) : 11q terminal deletion syndrome (Jacobsen 증후군)은 chromosome 11번 염색체 장완 말단 부위의 결실에 의해 야기되며, 10,0000명당 1명의 빈도로 드물게 발생한다. 이 증후군을 가지고 있는 환자의 핵형을 분석해 보면 11번 염색체의 11q23, q24, 또는 q25 부위의 결실을 보인다. 이러한 결실은 de novo로 발생하거나, balanced translocation carrier의 자손에게서 reciprocal translocation의 불균형 분리에 의해 발생하게 된다. 일반적인 임상적인 특징으로는 heart problems, speech and language problems, specific facial characteristics, 그리고 mild to severe mental retardation의 증상이 알려져 있다. 이에 본원에서 관찰된 11q terminal deletion 환자들의 임상증상을 살펴 보고자 한다.

방법(Methods) : 말초혈액 검체를 배양한 후 염색체 검사에서 20개 이상의 분열 중기세포를 count하여, 550 band-level의 해상도를 가진 분열중기세포를 분석하였다. 핵형의 표기는 International System for human Cytogenetic Nomenclature(ISCN, 2009)의 기준에 따랐다. 2007년부터 2012년 09월 까지 서울아산병원 의학유전학 센터에 의뢰된 검사 중 6case에서 11q 장완 말단 부위의 결실 또는 재배열을 확인하였고, 임상적인 특징을 고찰하였다.

결과(Results) : Hypoplastic left heart syndrome과 mental retardation, short stature으로 의뢰된 Case1, Case2 환자의 염색체에서는 말단부인 11q24.2-qter의 결실을 확인하였으며 case 3 에서는 interstitial deletion이 관찰되었고, 절단부위는 q23.3에서 q25사이로 추정되었다. 임상적인 특징으로는 high arched palate, asymmetric face, feeding difficulty를 보였다. Delayed development와 early puberty를 보인 Case 4에서는 add(11)(q25)이 관찰되었고, 11q25-qter의 partial monosomy 및 addition된 염색체의 partial trisomy를 가지고 있었다. Case 5에서 보인 der(11)t(7;11)(q22;q24.2)는 11번 염색체 장완과 7번 염색체 장완의 불균형 전좌를 보였고, cardiomegaly와 low set ear등의 특징이 관찰 되었다. developmental delay를 나타내는 Case 6 의 환아는 der(11)t(11;18)(q24.2;q21.3) 핵형을 보였고 이는 11번 염색체 장완과 18번 염색체 장완의 불균형 전좌를 나타낸다.

고찰(Discussion) : 본 연구에서 11q terminal deletion을 보인 6 case 중 case 1과 case 3 는 환아 부모가 균형 전좌 재배열 보인자로서, 환아의 11 q deletion이 부모로부터 유래한 der(11)이었고, case 2, 4, 5, 6은 de novo로 발생한 deletion임을 확인하였다. 11q23-qter은 disease-causing genes을 포함하고 있는 중요한 부위로서 주의 깊은 cytogenetic analysis가 필요하겠고, 임상적인 특징과의 연계성을 통해 비슷한 임상증상을 보이는 Turner syndrome 이나 Noonan syndromes 등과 감별 하여 정확한 진단을 할 수 있을 것이다.

Imatinib에 저항성이 있는 유전자 변이의 빈도

서울아산병원
권미량 · 최미옥 · 박상혁 · 조영욱 · 지현숙

배경(Background) : *BCR-ABL* 융합 유전자로 특징이 있는 조혈모세포 질환인 만성골수성백혈병과 필라델피아 염색체 양성 급성림프구성백혈병 환자의 치료는 ABL 키나제의 선택적인 저해자 Imatinib의 사용에 의해 개선 되어 왔다. 그러나 진행되는 단계의 대부분 환자들에서 imatinib의 초기 반응 후 재발되거나 질환이 지속되는데 이것은 imatinib에 저항성이 있는 유전자 변이가 ABL 키나제 위치에 나타나는 것이 주 원인이었다. 이에 본원에서는 재발되거나 치료에 반응하지 않는 환자들에 대하여 Imatinib에 저항성을 보이는 유전자변이를 검출하기 위하여 혈액과 골수 검체에서 염기서열 분석방법을 이용하여 검사하고, 환자의 질환에 따른 유전자변이의 특징과 빈도 등을 알아보고자 하였다.

방법(Methods) : 2009년 1월부터 2012년 7월까지 본원에서 내원한 환자 중 Imatinib에 저항성이 있을 것으로 의심되는 만성골수성백혈병의 가속기 또는 급성기 환자 및 *BCR-ABL* 재배열 양성인 급성림프아구성 백혈병환자 58명을 대상으로 결과를 분석하였다. 총58명의 환자에서 의뢰된 검체 중 혈액은 12개, 골수는 46개이었다. 혈액과 골수에서 High Pure RNA Isolation Kit (Roche, Switzerland)을 이용하여 RNA를 추출하고 cDNA를 만들었다. Nested PCR로 증폭 후 전기영동하여 Product 393/482/487bp를 확인하였다. 염기 서열 검사는 BIGDYE v3.1 (ABI, USA)을 사용하여 Genetic analyzer 3130XL 에서 검사 후, Sequencher 프로그램에서 Reference sequence (Gene Bank Accession No. X16416.)와 비교하여 분석하였다.

결과(Results) : 검사가 의뢰된 총58명의 환자 중 Imatinib에 저항성이 있는 유전자 변이가 발견된 환자는 10명(17.2%)이었다. 만성골수성백혈병(CML) 환자 38명 중 6명(13.1%), 급성림프구성백혈병 (ALL) 환자19명 중 3명(15.7%), 혼합표현형급성백혈병(MPAL) 환자 2명 중 1명(50%)에서 양성을 보였다. 만성골수성백혈병 환자에서는 c. 1423_1424ins35 (p.Cys475 Tyrfs*11) 2례, c.749G>A (p.Gly250Glu) 1례, c.925C>T (p.Pro309Ser)와 1423_1424ins35 (p.Cys475Tyrfs*11) 을 동시에 보이는 경우가 1례, c.1357G>C (Glu453Gln) 1례, c.757T>C (Thr253His) 1례를 보였다. 특히 급성림프구성백혈병환자에서 c.944C>T (p.Thr315Iso) 2례, 1423_1424ins35 (p.Cys475Tyrfs*11) 1례를 보였고 혼합표현형급성백혈병 환자에서는 c.943A>G (p.Thr315Ala)c.1064A>G (p.Glu355Gln) c.1423_1424ins35 (p.Cys475Tyrfs*11) 등 3개의 유전자 변이가 1례에서 발견되었다.

고찰(Discussion) : 본원에서Imatinib에 저항성이 있는 유전자 변이는 17.2%의 빈도를 보였다. c. 1423_1424ins35 (p.Cys475Tyrfs*11) 변이는 만성골수성백혈병, 급성림프구성백혈병, 혼합표현형급성백혈병등 세 질환에서 모두 나타났고 50%의 높은 빈도를 보였다. c.944C>T (p.Thr315Iso) 변이는 급성림프구성백혈병 환자에서만 관찰되는 특징을 보였다. 이와 같이 Imatinib 치료에 저항성을 보이는 만성골수성백혈병 뿐 아니라 *BCR-ABL*재배열 양성인, 급성림프아구성백혈병 및 혼합표현형급성백혈병환자에서도 염기서열 분석을 이용한 유전자 변이 검사를 시행하므로서 약제 선택에 방향을 제시할 수 있을 것으로 사료된다.

18p deletion 증후군에 관한 증례보고

(The report of the chromosome 18 short arm deletion syndrome)

서울아산병원

오유겸

배경(Background) : 18p deletion은 단두증, 사시, 길고 크게 튀어나온 귀, 넓은 얼굴 등의 안면기형이 있고, 심장기형을 비롯한 중증도의 지능저하와 발달지연이 있는 염색체 질환으로 발생률은 50,000:1이며, 남녀성비는 2:3이다. 18p deletion의 85%정도는 de novo 결실이며, 15%정도는 가족성 재배열에서 발생한다. 본원에서 최근 6년간 2건을 보고하였고, 그와 관련된 증례를 보고하고자 한다.

방법(Methods) : 환자의 말초혈액에 PHA를 넣어 72시간 배양 후 colcemid처리 후 세포팽창 과정과 고정단계를 거쳐 slide를 만들고 aging 후 stain하여 분석하였다. 분석 시 20개의 분열중기세포를 count하고, 550 band-level의 해상도를 가진 분열중기세포를 5개 이상 분석하였다.

결과(Results) : 첫번째 case는 영아 때 심실중격결손이 있는 폐동맥폐쇄 (PA with VSD) 진단을 받아 본원에서 체동맥-폐동맥 단락술(BT shunt)을 받은 후 follow up으로 진단 받던 환아로 유전적 심질환을 의심하여 Digeorge FISH검사 시행하여 정상으로 나왔으나 염색체 검사에서 del(18)(p11.1)이 관찰되었다. 두번째 case는 영아 때 동맥관 개존증(PDA)으로 수술 받은 사례가 있었고 발달지연과 중증도의 지능저하로 내원하여 실시한 염색체 검사에서 del(18)(p11.1)이 관찰되었다.

고찰(Discussion) : 본원 서울아산병원에서는 최근 6년간 보고된 말초혈액 검사 중, 2건에서 del(18)(p11.1)이 관찰되었다. 심장기형을 동반하는 경우는 10%내외로 보고되어 있으나 두 환자 모두 심장기형으로 인한 수술을 받은 사례가 있었다는 특징이 있었다. 상당히 드문 염색체 질환이지만, 특징적인 임상증상을 통해 다른 염색체 이상과 더불어 18p deletion에도 주의를 기울인다면 보다 더 정확한 염색체 결과를 보고 할 수 있을 것이다.

Cytogenetic Microarray으로 확인한 15번 염색체의 Prader-willi/Angelman syndrome 1예

녹십자 의료재단 의학유전체 연구소 제2연구팀
김주연 · 강유선 · 조은해

배경(Background) : Prader-willi/Angelman syndrome은 15번 염색체(15q11-13)에 유전자 이상이 발생하고, 이로 인해 시상하부 기능에 장애가 발생하는 질환으로, 연령과 개인에 따라 나타나는 증상은 다르다. 일반적으로 저신장, 근육 저긴장, 수유 곤란, 발달 장애, 지능 장애, 작은 손발, 성장호르몬 결핍증, 시상하부성 생식샘 저하증이 나타나며 발달이 늦어 목 가누기, 기어 다니기 등이 다른 아이들에 비해 늦으며, 말도 늦으나 이후 2~3세경이 되면 식욕이 갑자기 증가하면서 먹는 양이 증가하고, 음식에 대한 욕구가 매우 강해져 비만과 당뇨를 유발하는 유전 질환이다. Prader-willi/Angelman syndrome은 결실 부위가 미세하여 FISH(fluorescence in situ hybridization)법이나 Cytogenetic Microarray법으로 확진이 가능하며 일반적인 karyotype 상에서는 판별이 어렵다.(Fig.1) 본 증례는 2012년 9월 19일 의뢰된 1세 환아로, Hypotonia와 Poor feeding을 주소로 본원에 Cytogenetic Microarray법을 의뢰하였고, 분석 결과 15번 염색체의 이상이 발견되었다.

증례(Case) : Cytogenetic Microarray를 시행하기 위해 환자의 말초혈액에서 DNA Mini Kit(Qiagene,Germany)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA 250ng을 amplification 하여 purification과 Fragmentation, labeling과정을 거친 후, chip안의 probe와 hybridization 시키고,washing과 stain과정을 거쳐 analysis하였다.(Affymetrix Cytoscan 750k array) 분석 결과 15 염색체의 q11.2에서 q13.1까지 약 5,128 Kbp의 결실이 관찰되어 Prader-willi/Angelman syndrome 에 합당한 소견임을 알 수 있었다(Fig.2,3).

고찰(Discussion) : Cytogenetic Microarray법은 전체 유전체에 걸쳐 유전자 500kb 이상의 결실, 중복을 검사하는 고해상도 검사로써, 유전자의 결실이나 중복, 기존의 핵형분석으로 발견이 불가능한 미세결실과 유전체의 미세이상을 발견해 낼 수 있으며, 특히 위 증례와 같이 결실이 미세하여 karyotype 만으로 확진이 어려운 경우 Cytogenetic Microarray법을 이용하여 신속하고 정확한 진단을 내릴 수 있어 유용한 검사라고 사료된다.

Chromosomal microarray로 확진한 말초혈액의 X 염색체 단완(Xp22.31)의 STS유전자 결실

녹십자의료재단
백민정 · 강유선 · 조은해

배경(Background) : X 연관 비늘증 (X-linked ichthyosis)은 비늘증 가운데 두 번째로 흔한 질환으로 X염색체 열성으로 유전되며 남자 2000~6000명당 1명 정도로 발생한다. 임상적으로는 비늘증을 보이는 경미한 유전성 질환으로 보통 태어날 때부터 생겨서 나이가 들수록 심해진다. 일부에서는 피부 증상 이외의 다른 증상이 나타나기도 한다.이 질환은 스테로이드 설파타제(steroid sulfatase)의 유전자 이상으로 인한 스테로이드 설파타제 결핍으로 발생한다. X 염색체 단완(Xp22)의 스테로이드 설파타제 유전자(STS) 돌연변이로 인한 X 염색체 열성 유전의 질환이다. 표피 각질층의 스테로이드 설파타제의 결핍으로 정상적인 각질의 탈락이 이루어지지 않아 증상이 발생한다. 본원에 의뢰된 검체 중 말초혈액에서 X 염색체 단완(Xp22.31)의 STS유전자 결실을 chromosomal microarray 법으로 확진 하였다.

증례(Case) : 2012년 5월 의뢰된 태어난 지 3개월 된 남아의 말초혈액으로 비늘증을 보이는 피부증상 소견으로 microarray 검사를 의뢰하였다. Chromosomal microarray를 시행하기 위해 말초혈액에서 DNA Mini Kit (Qiagene, Germany)를 이용하여 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA 100ng을 16시간 동안 amplification하여, purification과 labeling 한 후, chip안에 있는 probe 와 16시간 동안 hybridization하였다. 그리고 washing과 stain 과정을 거쳐 analysis 하였다(Affymetrix 2.7). Microarray 결과 X염색체 단완(Xp22.31) 에서 약 1.9Mb의 결실이 관찰되었다.

고찰(Discussion) : 일반적인 염색체 검사에서 발견하지 못하거나 확진이 어려운 미세결실을 찾아낼 수 있는 방법으로 최신 chromosomal microarray 기법을 이용하여 발달지연, 정신장애, 자폐증, 선천성 기형과 관련된 유전자 이상에 대한 검사를 한꺼번에 할 수 있는 신속하고 정확한 검사로 유용할 것으로 사료된다.

Myelodysplastic syndrome 환자의 골수 chromosomal analysis와 Cytogenetic Microarray 분석결과 증례보고

녹십자의료재단
남옥이 · 강유선 · 조은해

배경(Background) : Myelodysplastic syndrome(이하 MDS)는 조혈모세포의 기능장애로 유전자변이가 생겨 여기에서 유래한 비정상세포들이 골수기능을 차지하고 정상 조혈세포들의 기능을 억제하여 골수 내 조혈세포의 질적 양적 이상소견을 보인다. MDS는 골수 세포유전학적 검사를 통해 전체 환자 중 40% 에서 염색체 이상 소견이 나타나며 이와 같은 혈액종양환자의 경우 매우 복잡한 수적, 구조적 이상을 나타내므로 chromosomal analysis와 함께 염색체의 breakpoint 및 미세결실, 중복 등을 확인할 수 있는 cytogenetic microarray검사를 함께 시행하는 경우가 늘고 있다. 본원에 의뢰된 67세 MDS 남성환자의 골수 chromosomal analysis 결과와 골수 cytogenetic microarray 분석결과를 비교한 결과 chromosome의 정확한 breakpoint를 확인하여 이를 보고하고자 한다.

증례(Case) : 67세의 남성환자로 MDS소견으로 본원에 골수 chromosomal analysis 와 골수 Cytogenetic Microarray검사가 의뢰되었다. 골수 chromosomal analysis는 20% RPMI1640 배지에 72hrs 배양법과 MTX/Thymidine을 처리한 24hrs배양법, PW를 처리한 72hrs배양법 등의 다양한 방법으로 배양하였다. 배양 후 0.075M KCl저장액 처리와 Carnoy sol.고정처리 후 slide를 제작하였다. GTL Banding으로 염색하여 20개의 분열세포를 분석하였다. Cytogenetic microarray검사를 위해 DNA Mini Kit (Qiagene, Germany)를 이용하여 DNA를 추출하였고, 추출된 DNA 100ng을 16시간동안 amplification하여, purification과 labeling한 후, chip안에 있는 probe와 16시간동안 hybridization하였다. 그리고 Washing과 stain과정을 거쳐 analysis하였다(Affymetrix 2.7M). 골수 chromosomal analysis 결과 46,X,-Y,t(3;18)(q21;p11.2),t(8;14)(q24.1;q32),+der(18)t(3;18)[2]/47,idem,+mar[7]/45,X,-Y[3]/46,XY[8]이고, cytogenetic microarray 분석결과 Loss: Yp11.3q12 Gain: 3q13.32q29, 6q15q15, 18q11.1q23의 결과를 보여 t(3;18)(q21;p11.2)에서 3번의 정확한 breakpoint가 3q13.32로 확인할 수 있었다.

고찰(Discussion) : MDS와 같은 혈액종양환자의 염색체는 수적, 구조적으로 매우 복잡한 이상을 나타내며 다양한 유전적 변화를 동반하는 경우가 많다. chromosomal analysis는 전체적인 염색체의 수적, 구조적 이상을 관찰하기는 용이하나 미세결실이나 중복 등 육안으로 관찰하기 어려운 부분에는 한계가 있다. Cytogenetic microarray검사는 2,700,000개의 maker를 이용하여 유전자의 결실, 중복을 검사하며, 기존의 염색체 분석으로 발견이 어려운 대부분의 미세결실/중복 증후군뿐 아니라 breakpoint 및 새로운 미세이상을 발견할 수 있다. 대신 낮은 수준의 모자이시즘, 균형전좌, 역위, 점돌연변이의 검출은 어렵다는 단점이 있기 때문에 기존의 chromosomal analysis, FISH 등의 검사와 병행하면 진단에 도움이 되리라 본다. 본원에 의뢰된 67세 남성환자의 BM chromosomal analysis와 cytogenetic microarray를 병행하여 검사한 결과 균형전좌(Balanced translocation)와 육안으로 확인하기 어려운 정확한 breakpoint를 확인할 수 있었다.

당화 혈색소(Hb A1c)검사의 보관 온도별 검체 안정성 검사

녹십자 의료재단 진단 검사의학부 혈액학 팀
유일호

배경(Background) : 당화 혈색소(Hb A1c)검사는 최근 2-3개월 간의 종합적인 혈당관리를 monitoring하는 데 중요한 지표가 되는 검사이다. 원내 기준 검체(EDTA Whole blood)는 접수, 검사 후 냉장상태 7일 보관하고 있으나, 냉동상태에 따른 검체 안정성 및 재현성의 기초 자료 및 정보가 없고 관련된 문의가 종종 발생하여 원내 기준 검체(EDTA Whole blood)의 일자별, 온도별 보관상태에 따라 안정성을 보고자 하였다.

방법(Methods) : 검사 방법은 HPLC원리를 사용하는 BIO-RAD사의 Variant Turbo-II로 측정하였다. 검체는 원내 기준 검체 인 EDTA Whole blood 15건을 DATA별로 선정 하여, 실온(20~24℃), 냉장(2~8℃), 냉동1(-18~-25℃), 냉동2(-70℃)의 4개 군으로 분류하고 5uL씩 micro tube에 나누어 각각 보관하고, 측정 시 Dilution buffer 1,500uL와 혼합하여 검체 당 2회씩, 3일간 측정하여 %Bias로 비교하였다.

결과(Results) : 보관 온도별 %Bias 변화는 보관1일 후, 2일 후, 3일 후 측정 시 실온(20~24℃)에서 3.05, 6.18, 8.07 이고, 냉장(2~8℃)에서는 1.68, 5.56, 7.15이었다. 냉동1(-18~-25℃)에서는 1.57, 1.29, 1.99 이고, 냉동2(-70℃)에서는 1.11, 0.64, 0.94 이었다.

고찰(Discussion) : 3일간의 측정결과 실온(20~24℃)보관 검체의 경우 %Bias의 mean 값이 크게 증가 하였으나, 냉동2(-70℃) 보관 검체의 경우 %Bias의 mean값은 거의 변화가 없었다. 이번 보관 온도별 검체 안정성 검사로 미루어 보아 EDTA Whole blood의 경우 장시간 보관을 요할 때에는 냉동(-70℃)상태로 보관하는 것이 안정적일 것으로 보여진다.

최근 3년간 Malaria 양성율 보고

녹십자의료재단 감염유전체팀
김은주 · 박용원 · 장자현 · 조은해

배경(Background) : 말라리아는 Plasmodium 속에 속하는 단세포 기생동물인 원충이 적혈구와 간세포 내에 기생함으로써 발병하는 급성 열성 감염증이다. 사람의 말라리아 감염은 Plasmodium 속 원충 가운데 Plasmodium falciparum(열대열원충), Plasmodium vivax(삼일열원충), Plasmodium ovale(난형열원충), Plasmodium malariae(사일열원충) 4종의 원충이 질병을 유발한다. 현재 우리나라와 같은 온대지방에서 유행하는 말라리아는 Plasmodium vivax(삼일열원충)로 1970년대에 사라졌다가 1993년 이후 다시 유행하기 시작하였다. 감염된 모기에서 물린 후 인체에서 임상증상이 나타날 때 까지 잠복기는 14일이지만, 삼일열말라리아의 경우는 1년까지 간 속에 잠복해 있기도 한다. 말라리아가 의심되면 혈액으로 진단이 가능한데 말초혈액을 도말하여 염색한 후 현미경으로 관찰하여 찾아 낼 수 있고 말라리아 원충의 단백질항원을 이용하여 검사하는 혈청학적 검사가 있으며 위 두가지 검사법의 한계인 저농도 혈증 진단까지 가능한 중합효소연쇄반응(PCR)법이 있다. 본 검사실에서는 2009년부터 최근 2012년 3년간의 전국지역에서 PCR법으로 의뢰된 말라리아의 지역별양성율과 그 변화추이를 살펴보고자 한다.

방법(Methods) : 2009년에서 2012년 본 검사실에 의뢰된 검체를 대상으로 전체 양성율을 조사하였으며 임상검체는 Chemagen chemagic MSM I 자동 핵산 추출 장비를 이용하여 제조사 지침에 따라 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA에 대해 시발체(primer)를 이용하여 T3000 (Biometra Germany)장비로 추출된 핵산을 증폭하고 선별검사, 종별검사를 시행하였다.

결과(Results) : 본 검사실의 2009년에서 최근 2012년 의뢰된 말라리아는 총1,203건이며 평균 양성율은 22.3%를 보였다.지역별로는 서울(7.6%) 〉경기(5.6%) 〉인천(3.6%) 〉대전(1.9%) 〉전라도(1.2%) 〉광주,경상도,부산(0.8%) 〉대구(0.7%) 〉울산,제주(0.2%) 순으로 나타났고 그 외 지역에서도 미비한 양성율을 나타내었다.

고찰(Discussion) : 2009년부터 2012년 상반기까지 3년간 전 지역의 양성율 평균은 각기 28.6%, 26.7%, 19.2%, 14.5%로 3년 평균은 22.3%를 보였다. 지역적으로는 서울, 인천, 대전 등 주로 경기 서북부 지역에 환자 발생 증가가 집중되었다. 이러한 현상은 우리나라 말라리아 발생은 일반적인 경향이 아니라 특정 지역에 국한된 관련성이 있을 것으로 생각된다. 휴전선 근처와 해안가 지역, 대도시 주변 등에 밀집되어 있는데 이런 특징이 사회경제적 변수와 역관계를 만든 요인으로 사료된다.

Microarray로 확인한 ALL 환자의 Bone marrow 결과 2건

녹십자의료재단
구선영 · 강유선 · 조은해

배경(Background) : ALL 환자에서 나타날 수 있는 염색체의 변이는 매우 다양한 양상을 보일 수 있다. 일반적으로 ALL환자의 65~90% 이상에서 세포유전학적 이상이 동반될 수 있다고 한다. 특히 다른 질환과 마찬가지로 ALL에서도 특정한 염색체의 이상은 치료의 방향과 예후를 예측하는 데 있어 중요한 인자로 작용할 수 있기 때문에, 정확한 검사결과를 제공하는 것이 중요하다. 본 case는 본 원에 의뢰된 같은 환자에서 실시한 두 건의 BM-Microarry 결과에서 전혀 다른 패턴의 abnormal이 관찰되었으므로 이를 보고하고자 한다.

방법(Methods) : Microarry 검사를 위해 BM 샘플에서 DNA를 추출하여, 추출한 DNA 100ng을 Thermal cycler안에서 amplification 과정을 거치고, Purif wash buffer로 정제를 한 후, 2.7M Cytochip 위에서 교잡반응을 시행하였다. Hybridized된 Chip을 GeneChip Fluidics Station 450 장비를 이용하여 Wash 및 Stain하고 Affymatrix GeneChip Scanner로 Scanning 한 data를 분석하였다

결과(Results) : 101로 구분된 결과에서는 9p에서 약 1.8M의 결실과 13q14.2의 RB1 유전자를 포함한 91Kb 결실이 heterozygous로 관찰되는 반면, 102로 구분된 결과에서는 6p22.2, 8q22.1, 9p21.3p21.2, 14q11.2, 18q22.2, 19p13.2부위의 소실을 동반하고, 9p21.3과 13q14.2 부위의 homozoygous 소실을 보였다.

고찰(Discussion) : 동일한 환자에서라도, 혈액종양을 앓고 있는 환자들에서 BM chromosome 결과는 치료와 약물의 영향하에 상당히 다른 패턴으로 나타날 수 있다. 그러나, 특히 ALL 검체는 같은 slide 내에서도 정상세포는 해상도가 좋고, 비정상 세포일수록 해상도가 나쁜 경우가 많아 육안으로 확인하고 결과를 내는 데 있어 오류를 범할 가능성이 높다. 또한 일반적으로 slide를 만드는 과정에서 일어날 수 있는 random loss라 생각해서 염색체의 개수가 적어 보이는 cell을 분석에서 제외시키는 경우도 있을 수 있으나, ALL에서는 염색체의 수적 이상 자체가 예후와 연관되는 경우가 많으므로 이에 대해서도 주의를 기울여야 한다. Microarry검사는 위 두 건과 같이 동일한 사람에게서도 다양하게 나타날 수 있는 염색체의 이상을 정확하고 명확하게 결실된 부위의 위치와 크기 및 포함되어 있는 gene까지도 밝혀낼 수 있어서, 까다롭게 분석해야 하는 혈액종양 환자의 검사에서도 유용하게 쓰일 수 있다.

검체 보관조건에 따른 Lymphocyte Subset 검체 안정성 평가

녹십자의료재단
이숙정

배경(Background) : Lymphocyte Subset 검사는 림프구 표면에 있는 항원의 종류 및 표현 정도를 알아내어 혈액질환 및 각종 질환의 진단 및 치료에 도움을 주는 검사로 세포 표면에 각각 특징적인 항원을 표현하고 있다. 검체는 세포 표면의 항원을 검사하게 되므로 검체의 상태가 결과에 미치는 영향 또한 크다. 이에 수탁 전문의료기관에서의 검체 보관조건에 따른 검체 안정성을 평가하기로 하였다.

방법(Methods) : 검사 항목은 Lymphocyte Subset 5종(CD3, CD4, CD8, NK Cell, B Cell)으로 하고, 분석 장비는 Cytomic FC500으로 한다. Cell Viability를 측정하여 Cell 상태를 확인 후 검체 보관 조건에 따른 결과의 차이를 보기 위하여 채혈 후 1시간 이내에 검사를 진행하고, 2그룹으로 나누어 A그룹은 실온 보관, B그룹은 냉장 보관하여 24시간, 48시간 경과 후 반복 검사를 진행, 1시간 이내 검사한 결과를 기준으로 %Bias로 평가하기로 하였다.

결과(Results) : 검체의 Cell Viability는 모두 85%이상을 보였으며, T Cell중 CD3는 조건에 따른 영향이 적었던 반면 CD4는 냉장 보관 시 결과의 감소를 보였으며, CD8은 시간에 따른 증가를 보였다. NK Cell은 실온에서 시간이 지남에 따라 감소를 보였으며, B Cell 역시 실온에서 시간이 지남에 따라 결과의 감소를 보였다.

고찰(Discussion) : Lymphocyte Subset 은 실온 24시간에서 가장 작은 Bias를 보여 안정적이라 할 수 있었으며, 냉장 보관 할 경우 CD4의 감소를 보이므로 유세포 검사 보관 시 지양해야 할 조건이라 판단된다. 따라서 Lymphocyte Subset 검사 시 검체의 Cell Viability가 85%이상이라도 채혈 후 가능한 빨리 검사를 진행하되 그렇지 못할 경우 48시간 내에 검사하고, 검체는 냉장 보관보다는 실온 보관하는 것이 적합하다고 판단된다.

혈액응고검사(PT, aPTT)시약 제조 시 온도 변화에 따른 결과 값의 영향

녹십자의료재단
김영래

배경(Background) : 일상적으로 시행하는 혈액응고 검사의 경우 검체인 혈장(3.2% Sod. Citrate)에 시약을 가하고, 응고 될 때까지의 시간을 역학적 또는 광학적 원리를 이용하여 측정하는 것이다. 그러나 응고 인자의 양과 기능 측정의 경우 복잡한 연쇄 효소 반응인 응고 반응이 적용되는 검사로서 시약의 특이성, 감도, PH, 반응온도, 전기 전도도 등의 측정 조건 변화에 크게 영향을 받게 된다. 또한 사용 시약은 생물학적 재료를 원료로 하므로 제조 및 보존에 올바른 관리가 요구된다. 이와 관련하여 계절변화에 따른 실내 온도 차이가 응고 검사 결과에 영향이 있을 것으로 사료되어 검사 진행 시 관리가 가장 취약 할 수 있는 시약 제조 단계에서 온도변화에 따른 결과 값의 차이를 비교 관찰 하였다.

방법(Methods) : 관찰 시약 범위는 분말 형태로 제공되어 담당자의 제조 단계가 필요한 시약으로 하였고, 검사 항목은 일반적으로 사용되는 prothrombin time(PT), activated partial thromboplastin time (aPTT) 2항목을 비교하였다. 시약은 제공 insert 지침에 따라 개봉(제조) 전 냉장(4-6℃) 보관하였고, 증류수 분주(제조) 후 안정화 단계에서 온도 변화를 주어 각 단계별 상용화된 물질(CONTROL)의 normal 과 abnormal level결과 차이를 비교 분석 하였다. 온도는 ①냉장1(2-8℃), ②냉장2(장비 내부 온도 기준: 15-20℃), ③실온(18-25℃), ④가온(37℃)의 4단계로 분류 하고, 단계 마다 CONTROL 물질(normal, abnormal)을 각 10회씩 반복 측정하여 재현성과 결과의 평균값을 비교 분석 하였다. 측정 장비는 STA-R evolution (제조사:DIAGNOSTICA STAGO), PT시약은 NEOPLASTINE Cl PLUS, aPTT 시약은 PTT A5, Control 물질은 STA-COAG CONTROL N 과 P, 측정원리는 electromagnetic을 이용하여 혈장의 유동성 변화 측정을 기초로 한 Clot assay법이다.

결과(Results) : STA-COAG CONTROL N(normal)의 ①냉장1(2-8℃), ②냉장2(장비 내부 온도 기준: 15-20℃), ③실온(18-25℃), ④가온(37℃) 에서 실시한 PT (%)검사의 평균은 95, 90, 90, 100% 이고, aPTT (sec)검사의 평균은 34.2, 35, 35, 33.8 sec 이었다. PT (%)검사의 CV는 3.6, 2.3, 1.8, 2.1 이고, aPTT (sec)검사의 CV는 2.3,1.1,1.6,1.9 이었다. STA-COAG CONTROL P(abnormal)의 ①냉장1(2-8℃), ②냉장2(장비 내부 온도 기준: 15-20℃), ③실온(18-25℃), ④가온(37℃) 에서 실시한PT (%)검사의 평균은 41, 42, 41, 42% 였고, aPTT (sec)검사의 평균은 54.4, 53.7, 53.2, 51.9 sec 이었다. PT (%)검사의 CV는 3.3, 2.3, 2.5, 3.5 이고, aPTT (sec)검사의 CV는 2.3, 2.7,2.9, 3.9 sec 이었다.

고찰(Discussion) : 가온(37℃) 단계의 결과 값이 PT(%)의 경우 유의하게 상승하고, aPTT (sec)의 경우 단축되는 것으로 보아 시약 제조 시 높은 온도를 가함으로 인해 Clot 형성이 빠르게 이루어 지는 것으로 보인다. 또한, CV 계산 시 냉장1, 가온의 경우는 냉장2, 실온에 비해 높은 CV값을 보여 결과의 재현성이 낮아지는 경향이 보인다. 그리고, 냉장2(장비 내 REAGENT DRAWER AREA)와 실온의 결과에서는 차이가 거의 나타나지 않았다. 결국, 시약 조제 시 주변 환경의 급격한 온도 변화는 시약의 안정화 단계에 있어 필요한 protein의 균질화와

activation에 영향을 주어 재현성이 떨어지고 Overactivated된 활성인자로 인하여 빠른 응고 형성이 이루어 지는 현상이 나타나므로, 환자 상태를 올바르게 반영하지 못할 것으로 사료된다. 따라서 실내 온도를 적정 (18-25℃)하게 유지하는 것이 올바른 검사 결과를 얻기 위하여 반드시 선행 되어야 할 것이며, 장비 DRAWER내의 온도는 15-20℃ 로 항시 적정온도를 유지하고 있으므로 계절 변화에 따른 DATA의 변화를 줄이기 위해선 시약 조제 후 장비 내에서 안정화 시키는 방법을 사용하는 것도 고려할 만하다.

제대혈의 단핵세포 비율과 재태 연령의 상관성 분석

메디포스트(주) 생명공학연구소
최정미 · 양정윤 · 김희정 · 홍혜경 · 오원일

배경(Background) : 제대혈은 분만 시 신생아로부터 분리된 탯줄과 태반에 남아 있는 혈액으로, 제대혈 내의 유핵세포(nucleated cell)분획에는 조혈모세포가 풍부하여 혈액과 면역 장애 질환 등에 효과적인 치료방법으로 쓰이고 있다. 채취된 제대혈은 검사 및 가공 과정을 거쳐 조혈모세포가 포함 되어 있는 유핵세포 부분을 분리, 저장하여 향후 이식에 사용할 수 있도록 한다. 분리된 총 유핵세포 수(total nucleated cells, TNCs)와 그 속에 포함된 단핵세포 수(mononuclear cells, MNCs)는 제대혈 이식 성적을 결정하는 주요 인자로 재태 연령, 체중 등의 신생아의 요인에 의해 영향을 받을 수 있다. 본 연구에서는 총 유핵세포 내의 단핵세포 비율과 재태 연령 사이의 상관성을 분석하고자 하였다.

방법(Methods) : 2010년 1월부터 2011년 12월까지 메디포스트(주)에 보관 의뢰된 제대혈 25,370 단위를 대상으로 자동혈구분석기 ADVIA 2120 (Siemens, USA)를 이용하여 일반혈액(complete blood cell count, CBC)검사를 시행하고 총 유핵세포 내의 단핵세포 비율을 확인하였다. 측정된 25,370 단위의 제대혈 중 산전 감염질환 검사결과와 신생아의 정보가 기록된 제대혈 채취 기록지를 열람하여 재태 연령이 기재되어 있는 24,094 단위를 대상으로 단핵세포 비율을 비교하였다. 재태 연령을 기간별로 37주 미만, 37주, 38주, 39주, 40주, 41주 이상의 6군으로 나누어서 단핵세포 비율과 재태 연령과의 상관성을 평가하였다.

결과(Results) : 24,094 단위의 제대혈 평균 단핵세포 비율은 41.2%를 나타내었고, 재태 연령 기간 별로 나누어 측정한 단핵세포의 비율은 37주 미만 52.5%(955명), 37주 45.6%(2,087명), 38주 42.5%(6,079명), 39주 39.8%(7,142명), 40주 39.0%(6,240명), 41주 이상 39.0%(1,591명)를 보였다. 단핵세포 비율과 재태 연령의 상관성 분석에서 상관계수(r)값은 0.33으로 제대혈의 재태 연령이 높을수록 단핵세포의 비율이 낮아지는 상관성을 보였다.

고찰(Discussion) : 최근 자료에서 재태 연령이 총 유핵세포수와 총 단핵세포수와 연관성이 있다고 보고된 바 있다. 본 연구에서는 총 단핵세포수가 아닌 단핵세포의 비율과의 연관성을 분석하여 재태 연령이 높을수록 단핵세포의 비율이 낮아지는 결과를 나타냈다.

평균 단핵세포의 비율과 재태 연령 기간 별 단핵세포의 비율을 비교한 결과 37주 미만, 37주, 38주까지는 11.3%, 4.4%, 1.3%로 기간에 따라 차이가 나는 것을 볼 수 있으며, 39주, 40주, 41주 이상부터는 -1.4%, -2.2%, -2.2%로 변화의 폭이 적음을 알 수 있었다. 이에 38주 이하에서 채취한 제대혈은 다른 재태 연령군에 비해 단핵세포 비율이 높아 조혈모세포 이식에서 유용할 수 있을 것으로 사료되었다.

Cooling 시간에 따른 제대혈 세포 생존도의 변화 추이 관찰

메디포스트(주) 생명공학 연구소
유옥선 · 최기훈 · 양정윤 · 홍혜경 · 오원일

배경(Background) : 출산 시 탯줄과 태반에서 나오는 탯줄혈액인 제대혈은 백혈구와 적혈구, 혈소판 등 다양한 혈액세포들을 만들어 내는 조혈모세포를 다량 함유하고 있다. 산모에게서 채취된 제대혈은 조혈모세포 보관을 위해 일련의 처리과정을 거친 후 액체 질소탱크에 보관(-196℃)한다. 처리과정 중 첨가되는 동결 보존제는 고온상태에서는 가연성을 띄므로 냉장 보관한다. Precryo 상태인 제대혈에 냉장 보관된 동결 보존제 첨가 시 생기는 온도변화에 의한 세포 손상을 줄이기 위해 제대혈의 cooling 단계를 시행한다. 본 실험에서는 cooling 시간에 따라 세포 생존도에 어떠한 변화가 있는지 알아보고자 하였다.

방법(Methods) : 2012년 6월 2일~9월 30일까지 메디포스트㈜ 생명공학연구소에 보관 의뢰된 제대혈 중 채취부터 저장까지 20시간 이상 40시간 미만인 검체를 대상으로 606건 임의 추출하였다. 제대혈은 채취부터 저장까지 시간에 따라 생존도 값에 영향을 줄 수 있으므로 추출 대상을 20시간 이상 40시간 미만으로 지정하였다. Precryo 상태인 제대혈의 cooling 시간을 10분에서 60분까지 10분 단위로 총 6개 집단으로 나누었다. 동결 보존제(10% DMSO, BIONICHEPHAPMA)를 첨가한 세포의 생존도를 측정하고, 동결 보존제 첨가 전과 첨가 후 제대혈의 세포 생존도를 측정하였다. 세포 생존도 검사는 Tryphan blue dye Exclusion법(Tryphan blue solution, SIGMA)을 시행하였고, 검사자 간의 오차를 줄이기 위해 한 검체에 두 명 이상 Cross reading을 하여 평균값으로 나타내었다.

결과(Results) : Precryo 상태인 제대혈의 cooling 시간에 따른 세포 생존도는 10분 88.0%(n=96), 20분 87.6%(n=138), 30분 87.4%(n=125), 40분 87.3%(n=117), 50분 87.8%(n=71), 60분 86.8%(n=59)로 나타났다. 동결 보존제 첨가 전과 첨가 후 제대혈의 세포 생존도 차이는 10분 6.4%, 20분 7.0%, 30분 6.6%, 40분 6.8%, 50분 6.5%, 60분 7.6% 이었다.

고찰(Discussion) : 실험 결과 cooling 시간이 지연될수록 세포 생존도는 저하되었다. cooling 시간 10분과 60분의 세포 생존도 차이는 1.2%로 유의한 차이를 보이는데 이는 cooling 시간의 지연이 세포 생존도 저하에 영향을 미친다고 볼 수 있다. 또한 동결 보존제 첨가 전후의 세포 생존도는 시간이 경과할수록 차이가 커지는 양상을 보였다. 20분에서 50분까지 검체 생존도 차이는 10분 기준 평균 0.48%로 세포 생존도가 저하되고 있지만 변화의 폭이 적음을 알 수 있었다. Cooling 시간 60분 이상의 제대혈은 세포 생존도 값에 영향을 줄 수 있으므로 현재 시행되고 있는 Precryo 상태인 제대혈의 cooling 60분 이내 기준이 바람직하다고 볼 수 있다.

Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase 측정 시 위양성 예

울산의대 서울아산병원 진단검사의학과
전소현 · 박정숙 · 최미옥 · 지현숙

배경(Background) : G-6-PDH는 적혈구에 존재하는 hexose monophosphate pathway의 효소로서 결핍 시 용혈성빈혈을 일으킨다. G-6-PD 결핍된 환자의 적혈구 내에 산화성 물질이 축적되어 혈색소의 변성을 일으키고 용혈을 일으키게 되며, 이 산화성 물질의 환원을 위해서는 NADPH가 필요한데 이는 hexose monophosphate pathway에 의해 공급된다. 유전자 변이에 의한 G-6-PDH 활성의 감소는 heinz bodies를 형성하고 용혈성빈혈을 초래한다.
산화성 용혈을 일으키는 약제는 해열제, 설파제, 항말라리아제 등이고, G-6-PDH결핍된 환자에서 약물 복용 후 48-96시간 후 용혈이 나타난다. 검사소견으로는 헤모글로빈 혈증, 헤모글로빈 뇨증, heinz body의 관찰 등을 특징적으로 볼 수 있다.
하지만 이런 G-6-PDH 활성의 감소는 극히 드문 질환이기는 하나 용혈성빈혈 환자에서는 감별 진단 시 반드시 필요한 검사이므로 본원에서는 BEN-BIOCHEMICAL ENTERPRISE SRL(Italy)사의 시약으로 정량검사를 시행하고 있는데 최근 백혈구증다증 환자에서 참고치보다 높은 결과값을 보여 백혈구 제거 후 재측정하여 정상범위로 돌아온 경우가 있었기에 측정 시 주의해야 할 사항으로 생각되어 보고하는 바이다.

증례(Case) : 만성육아종성질환(Chronic granulomatous disease)으로 입원한 14개월 된 남아로 피부과 약을 투여하기 전, G-6-PDH 의 결핍 유무를 알기 위하여 검사 의뢰하였음. CBC 결과는 WBC 37.3 x 10^3/㎕, RBC 2.84 x 10^6/㎕, Reticulocyte 3.20%, Hb 7.3 g/dl, PLT 329 x 10^3/㎕ 이었으며, G-6-PDH 결과는 28.41 U/gHb로 참고치(7.0 U/gHb-20.5 U/gHb)를 벗어나는 결과를 나타내었다. 그래서 buffy coat층을 제거하고 재검사하여 정상범위인 20.14 U/gHb 의 결과를 얻을 수 있었다.

고찰(Discussion) : G-6-PDH는 신생아의 경우 높을 수 있고, 망상적혈구에 의해 상승될 수 있으며, 약물에 의해서도 영향을 받을 수 있다. 백혈구 및 혈소판 내에는 G-6-PDH가 풍부하여 검사결과에 영향을 미칠 수 있으므로 백혈구증다증 또는 백혈병의 경우, buffy coat층을 제거하고 검사를 시행할 것을 권고하고 있으나 간과되는 경우가 있으므로G-6-PDH정량검사 시 반드시 백혈구 수 및 혈소판 수를 확인하여 증가되어 있을 경우 이를 제거 후 검사를 시행해야 할 것으로 사료된다.

AMC의 CBC 정도관리물질 허용범위 설정 방법 소개

서울아산병원 진단검사의학과
최미옥 · 김종화 · 김동제 · 박찬정

배경(Background) : 자동혈구분석기의 내부정도관리를 위해서는 최소 2가지 농도 이상의 정도관리물질로 정도관리를 시행해야 하며 검사실 자체에서 설정된 허용범위를 사용하도록 규정되어 있다. 본 원은 현재 자동혈구분석기 XE-2100(SYSMEX, JAPAN) 7대를 사용하여 일평균 4,000여 건의 CBC검사를 시행하고 있고 년 6회 다른 Lot No.의 정도관리물질이 공급되어 각 장비 별로 자체 허용범위를 설정하여 사용하고 있다. 이에 연자는 본 검사실의 장비 및 정도관리물질 공급의 일정을 고려한 검사실 실정에 맞는 정도관리물질의 자체 허용범위 설정 기준을 마련하였기에 이를 소개하고자 한다.

방법(Methods) : XE-2100의 정도관리물질인 e-CHECK의 허용범위를 검증하기 위해 사용중인 정도관리물질과 5일 동안 2회씩parallel test를 시행하여 10회 측정한 값으로 평균값을 구하여 제조사 허용범위에 포함되는 지를 확인하였다. 일반적으로 안정적인 정도관리를 시행하였고 각 level별로 lot마다 정도관리 물질의 평균값이 유사한 값을 보이므로 전 Lot의 CV를 이용하여 각 항목 별로 SD를 구하고 10회 측정 시 평균값과 전Lot의 CV를 이용하여 구한 SD로 허용범위를 설정하였다. 허용범위의 재검증은 자체 설정된 범위로 사용하다가 20일간 누적 data의 mean 값이 자체 설정된 mean±1SD 이내 일 경우 수정 없이 사용하며 그렇치 않을 경우 20일 간의 누적결과로 허용범위를 재설정하여 사용하였다.

고찰(Discussion) : 자동혈구분석기의 정도관리물질은 짧은 유효기간으로 parallel검사에 한계가 있고 다수의 장비를 사용할 경우 각 장비 별로 빈번하게 정도관리업무를 시행해야 하므로 검사를 운용하는 검사자의 업무 부담을 가중시킬 수 있다. CLSI guideline에 따른 허용범위 설정 기준에 따라 검사실의 실정에 맞는 기준을 제시함으로서 검사자가 좀 더 편리하게 검사업무를 수행하며 CBC검사의 정확도를 향상시킬 수 있었다.

2009년 ISTH에서 제안된 Lupus Anticoagulant(LA) 검사 방법 도입

서울아산병원
이명심 · 최미옥 · 장성수 · 지현숙

배경(Background) : Lupus Anticoagulant(LA)는 일종의 항인지질 항체로 인지질에 결합하여 정상적인 응고 과정을 방해하여 시험관 내에서는 인지질 의존성 응고 장애를 가져오지만, 인체 내에서는 오히려 색전증을 일으켜 임상적으로 반복적인 유산이나 심부 정맥 혈전증 등을 일으킨다. 진단을 위해서는 인지질 의존성 응고 검사 상 비정상적인 응고 시간 연장, 정상 혈장과 혼합하여도 응고 장애가 교정되지 않는 억제효과, 인지질 성분을 더하면 응고 장애가 교정되는 조건들을 만족해야 한다. LA검사는 1995년 ISTH (International Society on Thrombosis & Haemostasis) 가이드라인에 따라 검사를 시행하였으나, 2009년 ISTH에서 기존 가이드라인의 문제점을 보완한 새로운 LA 가이드라인을 제안하였다. 그 내용으로는 환자 선택, LA 검사 시 부적절 요구 최소화, 채혈법, 검체 처리 과정, dRVVT와 sensitive aPTT검사로의 제한, 각 검사의 cut-off 계산 설명, 상황에 따른 결과 해석을 포함하고 있어 본 원에서는 제안된 LA검사 방법을 변경하였기에 이를 소개하고자 한다.

방법(Methods) : 91명의 환자 검체를 대상으로 STA-R(Diagnostica Stago; France) 장비를 이용하여 PT, aPTT, aPTT 혼합 검사, 혈소판 중화 검사, Dilute Russell's viper venom time (DRVVT) of DVV test/confirm (American Diagnostica Inc; USA)를 시행하였고, ACL TOP (Instrumentation Laboratory; USA) 장비를 이용하여 DRVVT method (IL-DRVVT)와 silica clotting time (IL-SCT)검사를 실시하였다. 2009년 가이드라인에 따라 선별 검사의 양성 기준이 되는 cut-off 값은 건강한 성인 48명의 결과치로 분포도의 99%이상 값으로 설정하였고, 20일 이상의 정도관리 결과로 허용범위를 설정하였다

결과(Results) : 변경된 방법의 LA 선별검사에서 확진 검사를 시행하는 기준이 되는 cut-off 값은 LA screen 34.9sec, SCT Screen 48.7sec이며, LA 양성 기준이 되는 선별검사와 확진 검사의 비율은 LAC (DRVVT) ratio 1.14, SCT (LA Screen) ratio 1.22였다. 기존 방법과의 결과를 비교해 보면, 91명 중, American Diagnostica (AD) 시약을 사용한 검사에서 44명, ACL TOP을 이용한 검사에서는 45명의 양성 결과를 얻을 수 있었다. 91명 중 22명의 환자가 임상적으로 항인지질 증후군의 증상을 보였고, 그 외의 환자에게서는 증상이 나타나지 않았다

고찰(Discussion) : ISTH의 1995년 가이드라인과 비교하여 2009년 가이드라인에서 변경된 중요한 내용으로는 첫째 LA 진단을 위해 기존에 제시된 LA방법은 2가지 이상의 검사를 시행하도록 하였으나, 2009년 가이드라인에서는 dRVVT와 sensitivity aPTT로 제한하여 위양성을 줄일 수 있도록 하였고, 두번째는 확진 검사에 사용하는 인지질을 hexagonal phase 또는 lipid bilayer를 사용하도록 제한하여 위음성을 줄일 수 있도록 하였다. 2가지 검사 중에서도 dRVVT 검사를 우선 실시하도록 권하여 검사의 우선 순위를 부여함으로 보다 일관된 검사를 수행할 수 있게 권고하였다. LA 검사는 임상적으로 후천적 혈전 증상을 나타내는 Antiphospholipid antibody syndrome (APS) 진단에 필수적인 검사로서 anti-cardiolipin (aCL)과 anti-b2glycoprotein I (B2 GPI) antibodies 검사와 함께 검사실적 진단의 기준이 되고 있으며 12주 간격으로 2회 이상 양성이 나오는 경우 임상적으로 중요한 의미를 갖게 된다. 본 원에서는 2009년 ISTH에서 권고한 LA검사 가이드라인에 맞춰 검사를 세팅하였다.

국내 말라리아 PCR의 양성 추이 조사

의료법인 삼광의료재단
이연주

배경(Background) : 말라리아는 *Plasmodium* 속 원충이 적혈구와 간세포 내에 기생함으로써 발병하는 급성 열성 감염증이다. 최근 국내에서 비무장 인접지역과 인천, 강화, 경기북부 지역을 중심으로 삼일열 말라리아*(Plasmodium vivax)*가 유행하고 있으며, 해외여행의 증가로 인하여 열대열 말라리아*(Plasmodium falciparum)*에 의한 감염도 증가되고 있다. 또한 수혈 전파성 감염의 위험도 함께 증가되고 있어 말라리아의 조기 진단이 필요하며 원충의 종류에 따라 감염기간이나 중증도가 다르므로 정확한 진단과 치료가 중요시 된다. 이에 본원에서 진단된 국내 말라리아의 양성추이를 조사해 보았다.

방법(Methods) : 2010년 9월부터 2012년 8월까지 최근 2년간 본원에 의뢰된 Malaria PCR 398건을 대상으로 하였다. 검체는 Chemagic DNA/RNA kit (Chemagen, Germany)를 이용하여 DNA 추출을 시행하였고 자체 개발한 primer를 사용하여 Polymerase chain reaction (PCR)로 증폭하였다. 증폭된 PCR 산물을 정제하고, 염기서열분석 (Direct sequencing)을 시행하여 원충을 확인하였다.

결과(Results) : 총 398건에서 양성을 보인 건수는 29건(7.29%)이였고, 월 별로 보았을 때 9월이 9건(31.03%)으로 가장 많았고 6월, 7월이 각 5건(17.24%), 5월 3건 (10.34%), 8월이 2건(6.90%) 이였으며 2월, 3월, 10월, 11월, 12월에 각 1건(3.45%)으로 조사되었다. 이 중 삼일열 말라리아가 23건(79.31%), 열대열 말라리아 5건 (17.24%), 사일열 말라리아*(Plasmodium malariae)* 1건(3.45%)으로 검출되었다. 삼일열 말라리아가 아닌 원충은 2월, 3월, 5월, 8월, 9월, 12월에 각 1건씩 이였다.

고찰(Discussion) : 월 별 양성률을 보았을 때 기온이 높아져 기존에 많이 나왔던 7-8월 보다는 약간 기온이 떨어진 9월에 가장 많은 양성률을 보였다. 또한 삼일열 말라리아 뿐 아니라 열대열 말라리아나 사일열 말라리아도 총 6건(20.69%)을 차지하고 있었으며 겨울에도 꾸준히 검출되는 것으로 조사되었다. 이로 미루어 보아 국내 말라리아 양성률 증가에 따른 감염 및 수혈성 전파의 위험도를 줄이기 위해서 여름철 뿐만 아니라 가을철에도 주의가 필요하며 말라리아의 빠르고 정확한 진단이 필요하겠다.

PFA-100 closure time에 영향을 미치는 요소와 유용성 (Factors affecting PFA-100 closure time and effectiveness of PFA-100)

인제대학교 해운대백병원 진단검사의학과
권형범

배경(Background) : 혈소판은 일차지혈에 관여하는 중요한 요소로 혈소판 응괴는 혈소판 부착, 활성화, 분비, 응집단계를 거쳐 이루어 진다. PFA-100(Simens, Newark, USA)은 혈소판 부착과 응집능을 측정함으로써 혈소판기능 장애 선별검사에 유용하게 사용되고 있다. 그러나 검사 결과에 이상이 있는 경우 약물의 효과, 본 빌레브란트병, 혈소판 기능 장애 등을 감별해야 하며 이 외에도 채혈시간, 혈액형, 혈소판수, 적혈구 용적율 등의 영향으로 정상 혈소판 기능의 경우에도 비정상적으로 연장되어 나올 수 있다. 최근 본원에 도입된 PFA-100의 측정결과에 이상을 보인 사례와 문헌고찰을 통해, 결과에 영향을 미치는 요소 파악의 중요성과 유용성에 대해 알아 보고자 하였다.

방법(Methods) : 2012년 2월부터 4월까지 인제대학교 해운대백병원 진단검사의학과에 의뢰된 혈소판 부착·응집능 검사인 Collagen/Epineprine, Collagen/ADP검사 중 Collagen/Epineprine에서 비정상적인 폐색시간을 나타내는 결과에 대하여 환자의 약물투여 여부와 적혈구 용적율 및 혈소판수를 관찰하였다. 측정장비는 PFA-100를 사용하였다.

결과(Results) : 본 원에서는 Collagen/Epineprine, Collagen/ADP참고치가 각각81~182초, 62~110초로 설정되어 있다. 관찰기간 동안 Collagen/Epineprine검사 3건에서 결과가182초 이상 연장되어 나타났다. 연장된 결과를 보이는 환자는 재검 측정 시에도 동일한 결과를 나타내었으며 각 각의 환자에서 적혈구 용적율은 16.6%, 28.7%, 14.2%를 혈소판 수는 86,000/ul, 132,000/ul, 104,000/ul를 나타내었다. 결과이상이 Aspirin에 기인한 것인지 알아보기 위하여, 한 환자에서는 Collagen/ADP검사를 추가로 실시하였고 결과는 94초로 나타났다.

고찰(Discussion) : PFA-100 Closure time(CT) 결과는 여러 요인에 의해 영향을 받는다. 성별과 연령은 대개 영향을 미치지 않지만, 남성보다 여성에서 연장되며 신생아에서는 von Willebrand factor 양이 적어 CT가 짧게 나타난다는 보고도 있다. 또한 검체 채취 시간에도 영향을 받을 수 있는데 Collagen/Epineprine은 오후에 채취한 혈액에서 30% 정도 CT가 연장되어 나타난다고 한다. CLSI Guideline에 따르면 Hct<20%, Platelet<50,000/ul인 경우에 PFA-100 CT검사를 권장하지 않으나, 제조사 지침서에 의하면 Hct<30%, Platelet<150,000/ul로 규정하고 있다. O형 혈액을 가진 사람들은 von Willebrand factor양이 적어 다른 혈액형 보다 10-20% 정도 CT결과가 연장될 수 있다. 이 외에 Aspirin, Indometacin, Meloxicam은 Collagen/Epineprine CT의 연장을, Abiciximab, Hydroxyethylstarch, gelatin은 Collagen/ADP CT의 연장을 초래한다. 따라서 결과 이상 시 영향을 미치는 요소에 대하여 정확한 분석이 요구되며 이는 검사의 신뢰도를 높이고 검사의 유용성을 향상 시킬 수 있는 중요한 요소가 될 것으로 사료되었다.

Mixing test를 위한 Homemade Normal Pooled Plasma의 제조 및 평가

세브란스병원 진단검사의학과
배가희 · 양미숙 · 김선경 · 김일 · 김수정

배경(Background) : Mixing test는 혈액응고 검사 중prothrombin time(PT) 또는 activated partial thromboplastin time (aPTT) 결과가 연장될 경우 그 원인이 응고인자 결핍으로 인한 것인지 아니면 응고인자 억제제에 의한 것인지를 규명해주기 위한 선별 검사로서, 환자의 혈장과 normal pooled plasma(NPP)를 동량 혼합하여 PT, aPTT 검사를 시행한다. NPP에는 충분한 양의 응고인자들이 포함되어 있으므로 응고인자결핍이 있는 경우, 응고시간이 단축(교정)되지만, 응고인자 억제제에 의해 응고시간이 연장된 경우라면 교정되지 않는 원리를 이용한 검사이다. 본 연구에서는 mixing test를 위한 NPP 를 제조하고 혈수판수, 응고검사, 응고인자검사를 포함한 응고 관련 단백에 대한 검사를 시행하여 그 성상을 평가하였다.

방법(Methods) : 2012년 8~9월 세브란스병원 진단검사의학과 검사실에 PT, aPTT검사가 의뢰된 3.2% sodium citrate 검체 중 정상 결과를 보이는 200명의 검체를 혈소판 결핍 혈장(혈소판 수≤$10x10^9$/L)으로 만들기 위해 3400rpm에 10분간 이중 원심 분리하여 플라스틱 컨테이너에 수집하였다. 수집하는 동안에는 -70℃에 냉동 보관하였고, 수집완료 후, 냉동된 pooled plasma를 37℃ water bath 에서 해동하였다. 해동된pooled plasma에 대하여 혈소판수, PT, aPTT, fibrinogen, D-dimer, fibrinogen-fibrin degradation products (FDP), thrombin time(TT), anti-thrombin lll(AT lll), protein C, free protein S, factor ll, V, Vll, Vlll, lX, X, Xl, Xll assay, von Willebrand factor(VWF) activity, VWF antigen(Ag), lupus anticoagulant (LA) screen, LA confirm 검사를 각 4회씩 실시하였다. 검사한pooled plasma는 mixing test에 사용하기 위하여 microtube에 각각 1.5ml씩 분주하여 -70℃에 보관하였다

결과(Results) : Homemade NPP의 평균 혈소판수는 7.8 $x10^9$/L, PT 10.3초, 116.3%, 0.9 INR, aPTT 34.1초, fibrinogen 296.8mg/dl, D-dimer 151.8ng/ml, FDP 3.6㎍/mL, TT 16.1초, AT lll 107.0%, protein C 110.3%, free protein S 91.3%, factor ll 100.5%, V 102.3%, Vll 116.9%, Vlll 96.9%, lX 103.6%, X 95.0%, Xl 91.9%, Xll 78.2%, VWF activity 139.0%, VWF Ag 100.3%, LA screen negative, LA confirm negative 였다.

고찰(Discussion) : 검사실에서 제조한 NPP의 혈소판 및 응고검사 평가결과가 검사실의 참고범위 안의 값을 보였으며 정상혈장을 이용하는 검사에 사용이 가능하다.

Stago revolution 장비를 이용한 D-dimer 정량검사의 유용성 평가
(Evaluation of D-dimer quantitative test with Stago revolution)

삼광의료재단
박홍철

배경(Background) : D-dimer는 혈액응고 결과 형성되는 섬유소들이 플라즈민에 의해 분해되어 생기는 분해 산물이다. 플라즈민은 피브리노겐, 피브린, 교차 결합한 피브린을 분해하지만 D-dimer는 혈액응고과정에서 형성된 교차결합한 피브린을 분해할 때만 형성된다. D-dimer는 범혈관내응고증(DIC)을 진단하는데 중요한 검사법의 하나로 사용되고 있다. DIC는 혈관내 응고 기전이 활성화되고 여기에 이어 섬유소 용해가 계속적으로 일어나는 상태인데 이때 D-dimer가 증가한다. D-dimer는 혈전형성 질환에서도 증가하기 때문에 심부정맥혈증(DVT)이나 폐색전증의 진단에서도 이용된다. 민감한 검사방법을 이용하여 D-dimer 정량검사를 시행하면 DVT 환자의 경우 거의 100%에서 D-dimer가 증가되어 있기 때문에 D-dimer 농도가 정상일 경우 DVT의 가능성을 배재할 수 있다는 보고도 있다. 정상혈장에서는 D-dimer가 존재하지 않기 때문에 FDP검사보다 DIC에 대한 특이도가 높으나 민감도가 낮기 때문에 두 가지 검사를 동시에 실시하는 것이 좋다. 이에 STAGO Revolution 장비를 이용하여 D-dimer 정량검사의 유용성을 평가하였다.

방법(Methods) : 본원에 의뢰된 40건을 대상으로 정밀도 평가를 위해 Low, High level로 검사 일내 CV(%)값을 알아보았고, Stago revolution 와 CA1500 장비의 상관관계를 평가하였다. 또한 자동화 장비이므로 Carry over를 실시하였다.

결과(Results) : 검사 일내 재현성에 대한 변이계수(CV)는 Low level: 3.42%, High level: 4.76%로 아주 좋은 재현성을 보였으며 두 장비간의 상관계수는 r=0.976로 나타났다.
Carry over는 0.34%로 ≦1.0%의 매우 양호한 결과를 보였다.

고찰(Discussion) : 본원에서 사용하는 자동화기기인 Stago revolution 장비를 이용한 D-dimer정량검사의 유용성을 평가해본 결과 재현성, 직선성 및 두 장비 간 상관성도 우수하였고 Carry over 평가역시 양호한 결과를 보여 CA1500 자동화장비를 이용한 D-dimer 정량검사는 여러 혈전형성 질환의 진단검사로 임상검사실에서 유용하게 사용 할 수 있을 것이다.

Stago revolution장비를 이용한 FDP 정량검사의 유용성 평가
(Evaluation of FDP quantitative test with Stago revolution)

삼광의료재단
박홍철

배경(Background) : 혈관이 다치면 아드레날린이 분비되어 혈관이 수축하고 혈관벽에 노출된 콜라겐에 혈소판이 붙게 된다. 이차적으로 응고인자가 활성화되어 결국 섬유소원(fibrinogen)이 섬유소(fibrin)로 되고 섬유소끼리 뭉쳐서 섬유소 중합체(polymer)가 되어 응괴에 붙어서 단단해 진다. 만들어진 응괴는 섬유소 용해효소(plasmin)를 활성화시킨다. 섬유소 용해효소에 의해 섬유소 중합체가 분해되면 섬유소 분해산물(FDP)이 생긴다. 섬유소 분해산물은 섬유소원이 섬유소로 되는 것을 막아서 항응고 작용을 한다. FDP는 D-dimer 검사와 더불어 DIC진단에 중요하다. DIC는 응고기전이 갑작스럽게 비정상적으로 자극 받은 상태이다. 비정성적인 응고가 폭발적으로 자극되면 응고인자와 혈소판이 모두 고갈되어 광범위하게 퍼진 혈전이 형성되며 과도한 혈전형성은 섬유소 용해과정을 활성화시킨다. 미세혈관내 손상된 장기에 허혈이 생기고 좁아진 미세혈관을 통과하던 적혈구가 파괴되어 빈혈이 생긴다. 또한 플라즈미노겐의 활성화뿐 아니라 혈소판 및 응고인자의 소모로 인한 출혈이 나타나기도 한다. 이에 Stago revolution 장비를 이용하여 FDP 정량검사의 유용성을 평가하였다.

방법(Methods) : 본원에 의뢰 된 40건을 대상으로 정밀도 평가를 위해 Low, High level로 검사 일내 CV(%)값을 알아보았고, Stago revolution와 CA1500 장비의 상관관계를 평가하였다. 또한 자동화장비이므로 Carry over를 실시하였다.

결과(Results) : 검사 일내 재현성에 대한 변이계수(CV)는 Low level: 3.84%, High level: 3.15%로 좋은 재현성을 보였으며 두 장비간의 상관계수는 r=0.9800로 나타났다. Carry over는 0.42%로 ≤1.0%의 매우 양호한 결과를 보였다.

고찰(Discussion) : CA1500 장비를 이용한 FDP검사는 재현성, 직선성 및 두 장비 간 상관성도 우수하였고 Carry over 평가역시 양호한 결과를 보였다. CA1500 자동화장비를 이용한 FDP 정량검사는 D-dimer 정량검사와 더불어 임상검사실에 유용하게 사용 될 수 있으리라 생각한다.

검체보관조건이 동종응집소역가에 미치는 영향
(Effects of specimen storage conditions on the isoagglutinin titer)

국립암센터 진단검사의학과
서희승 · 송윤경 · 안태규 · 김강림공선영

배경(Background) : ABO혈액형의 동종응집소역가는 ABO 부적합 골수이식의 경과 관찰에 중요한 지표이다. 최근 ABO 부적합 장기 이식이 증가하면서 수술 전 공여자 ABO 형에 부적합한 동종응집소를 제거하고 이를 지속적으로 평가하는 것이 중요해 지고 있다. 하지만, 통상 24시간 이내에 시행하는 동종응집소역가 검사 시간이 짧지 않아 검사 의뢰가 있을 때마다 수행하기 어려운 점이 있어 검체 저장 후 보관기간과 온도에 따른 영향이 있는지 알아보고자 하였다.

방법(Methods) : 국립암센터 국가암검진센터에서 건강검진을 받은 성인 (20-70세) 중 혈액형별로 각각 10명씩 총30명을 검사 대상으로 선정하였다. 검체별로 실온과 냉장보관으로 나누어 보관 전과 보관 후 매 24시간마다 96시간까지 검사하였다. 냉장보관검체의 경우 검사 전 30분 간 실온방치 후 검사하였고, 10개의 시험관에 생리식염수 100㎕를 분주한 후 검체를 100㎕넣고 연속 희석하여 실온식염수법으로 검사하였다. 각 시험관마다 3%의 혈구부유액 100㎕를 넣고 실온에서 혼합하여 3400rpm에서 15초 동안 원심분리 후 즉시 판독하였다.

결과(Results) : 보관 전과 비교하여 실온 보관 검체에서 A형 4개, B형 4개 검체에서 한 번 이상 1단계 역가차이를 보였다. O(anti-B)형 3개와 O(anti-A)형 3개의 검체에서 1단계 역가차이를 보였다. 냉장 보관 검체의 검사 결과 A형 6개, B형 4개 검체에서 1단계 역가차이를 보였고 O(anti-B)형 4개와 O(anti-A)형 3개 검체에서 1단계 역가차이를 보였다.

고찰(Discussion) : 동종응집소역가 검사에서 검체 보관 전과 비교 시 96시간까지 역가 차이가 1단계를 초과한 검체는 없었다. 1단계 역가차이는 반정량 검사의 결과 비교 시 허용 범위에 속하므로 동종응집소역가 검체의 안정조건을 냉장 및 실온보관에서 96시간까지 연장하는 것을 고려할 수 있겠다. 하지만, 중요성이 커지는 동종응집소 역가의 검사실간 검사법이 달라 검사방법 표준화의 필요성이 요구된다.

항-E를 지닌 간 이식 환자에게서 추가 동정 된 항-Di^a 검출 사례
(The Cases of Anti-E and Anti-Di^a appeared in liver trasnsplantation patient)

서울아산병원 혈액은행
김효진

배경(Background) : Diego 항원은 신생아 용혈성 질환의 신생아를 분만한 산모의 혈청 중에서 처음 발견되었다. Di^{a}항원은 백인에게는 드문 저 빈도 항원이나 미국 인디언과 몽고계 아시아인에게 비교적 높은 빈도로 발견되는 항원으로 국내 대부분의 검사실에서 사용하고 있는 외국산 선별 혈구에는 Di^{a}항원이 대부분 포함 되어 있지 않아 Di^{a}항원에 대한 항체(이하 항-Di^a 항체로 약함)검출이 어려운 실정이다. 이에 국내에서도 Di^{a}항원 선별 혈구의 필요성이 제기 된 바 있다. 본원에서는 2012년 4월 항-E를 지닌 간 이식 환자에게서 추가로 항-Di^{a}가 동정 된 사례가 있어 보고하는 바이다.

방법(Methods) : 환자의 항체 선별 검사(ID-Diacell I II, BioRad, cressier s/morat, Switzerland) 및 항체 동정 검사 검사(DiaPanel, BioRad, cressier s/morat, Switzerland)는 미세원주응집법(LISS-Coombs Card. BioRad, cressier s/morat, Switzerland)을 이용하여 검사하였다. 또 항-Di^{a}검사는 DiaCell Di^a(BioRad, cressier s/morat, Switzerland)선별 혈구와 환자의 혈청을 미세원주응집법(LISS-Coombs Card. BioRad, cressier s/morat, Switzerland)으로 검사하였고, 대한 적십자사 중앙검사센터에서 제공받은 E,c항원이 제외 된 Di^{a}항원 선별 혈구와 환자의 혈청을 미세원주응집법(LISS-Coombs Card. BioRad, cressier s/morat, Switzerland)으로 비교 검사 하였다.

결과(Results) : 환자의 항체 선별 검사는(4+)양성 이었으며, 본원에서 실시한 항체 동정 검사는 항-E로 동정 되었다.이에 E항원이 없는 농축적혈구 10단위와 환자의 혈청을 교차시험 하였고, 항글로블린 단계에서 혈액 2단위가(2+)양성반응으로 부적합을 보였다. 추가로 시행 된 DiaCell Di^a(BioRad, cressier s/morat, Switzerland)선별 혈구와 환자 혈청과의 반응에서(4+) 양성을 보였고, 대한 적십자사 중앙검사센터에서 제공받은 E,c항원이 제외 된 Di^{a}항원 선별혈구와의 반응에서(2+) 양성을 보여 항-Di^{a}가 환자의 혈청 내에 존재함을 확인하였다.

고찰(Discusion) : 항-Di^{a}는 수혈이나 임신 등에 의해 생길 수 있는 면역항체이며, 심하지는 않지만 용혈성 수혈부작용이나 신생아 용혈성 질환을 일으킬 수 있다. 또한 37℃에서 강하게 반응하는 Ig-G계열의 항체이므로 Di^{a}항원이 포함되어 있지 않은 외국산 선별 혈구를 사용하여 'Type & Screen'으로 실온식염수법만 시행하고 혈액을 출고하였을 때 발생할 수 있는 수혈부작용을 배제하기 어렵다. 이에 국내에서도 Di^{a}항원 선별혈구의 필요성을 강조하고자 한다.

제대혈의 Hematocrit과 LRP(Leukocyte rich plasma)의 관계 분석

메디포스트㈜ 생명공학연구소
이선미 · 최기훈 · 양정윤 · 홍혜경 · 오원일

배경(Background) : 제대혈은 태반과 탯줄을 포함하여 태아의 순환계를 돌고 있던 혈액으로 최근 제대혈을 이용한 조혈모세포의 이식의 임상적 유용성이 널리 인정받고 있으며 제대혈 보관이 늘고 있다. 성공적인 제대혈 보관 처리는 조혈모세포가 포함되어 있는 세포층인 유핵 세포층을 분리하여 보관하기 위해 제대혈 안에 존재하는 여러 다른 세포들을 제거하는 것이다. 적혈구와 혈장의 비율인 Hematocrit 수치와 제대혈에서 적혈구를 분리, 제거한 양을 뜻하는 LRP (Leukocyte rich plasma)량과의 의미가 관계있을 것으로 사료되어 본 분석을 시행하였다.
방법(Methods) : 2010년 7월 1일부터 2012년 6월 30일까지 메디포스트㈜ 제대혈 은행에 보관을 의뢰하여 보관처리가 완료된 제대혈 30,242건 중에서 항응고제(citrate phosphate dextrose adenine, CPDA-1) 24.5ml를 포함한 채취백(녹십자, 한국)으로 채취한 23,944건을 대상으로 하였다. Hematocrit은 가공 처리 전 제대혈에서 채취한 혈액으로 혈액 분석 장비 ADVIA 2120 (Siemens, USA)으로 측정하였다. 빈 백의 무게를 제외한 순수 혈액량과 24.5ml의 항응고제를 포함한 무게를 측정하여 원심 분리 후 LRP층을 분리하였다. Hematocrit 수치의 분포에 따라 구분하여 평균 LRP 비율(혈장 증량제를 첨가한 제대혈에서 LRP가 차지하는 비율)을 분석하였다. 제대혈 무게군별로 구분하여 평균 Hematocrit과 평균 LRP 비율을 분석하였다.
결과(Results) : Hematocrit(%) 분포별 평균 LRP 비율(%)은 <20(75.7), 20~24(73.4), 25~29(67.6), 30~34(61.7), 35~39(57.9), 40~44(55.8), 45~49(51.8), ≥50(48.8)으로 나타났다. 제대혈 무게군별 평균 Hematocrit(%)은 40~59g(29.0), 60~79g(35.3), 80~99g(38.6), 100~119g(40.6), 120~139g(41.7), ≥140g(42.9)으로 나타났다. 제대혈 무게군별 평균 LRP 비율(%)은 40~59g(67.6), 60~79g(58.9), 80~99g(57.7), 100~119g(57.2), 120~139g(55.3), ≥140g(54.2)으로 나타났다.
고찰(Discussion) : Hematocrit이 증가할수록 평균 LRP 비율이 감소한다는 결과로 Hematocrit과 평균 LRP 비율이 반비례 관계인 것을 알 수 있었다. 또한, 무게가 무거울수록 평균 Hematocrit은 증가하고, 평균 LRP 비율은 감소하였으나 평균 Hematocrit 수치가 증가하는 변화폭은 점점 줄어드는 것으로 나타났다. 이는 무게가 적을수록 순수 채혈량에 비해 항응고제가 차지하는 비율이 상대적으로 크기 때문에 분석 항목에 큰 영향을 미쳐서 나타나는 결과라고 생각한다. 본 분석을 통해 Hematocrit과 LRP의 관계가 증명되었으므로 Hematocrit과 LRP와 관련한 제대혈 품질향상에 도움이 되는 추가적인 분석이 필요하다고 사료된다.

단일 혈액원에서 처음 시행한 헌혈 혈액에 대한 B형 간염 핵산증폭검사 경험

한마음혈액원
윤형주 · 김근옥 · 안현기 · 박지훈 · 정희숙 · 황유성

배경(Background) : Hepatitis B Virus (HBV)는 수혈전파성 감염의 주요 원인으로, 전염성이 매우 높아 극소량의 감염 혈액만 주사되어도 감염이 가능하다. 특히 우리나라는 HBV에 의한 만성 간염의 유병률이 높으므로 헌혈 혈액 관리 시 더욱 주의가 요구된다. 기존의 헌혈 혈액의 선별검사로 HBsAg 검사를 시행해 왔으나, 이는 항체미형성기(window period)나 변이형 HBV, 그리고 잠복 HBV 감염 (Occult HBV infection, OBI) 등의 경우에는 검출해 낼 수 없으므로 이를 보완하기 위해 본 혈액원에서는 HBV에 대한 핵산증폭검사(Nucleic acid amplification testing, NAT)를 도입하였다. 본 연구의 목적은 HBV NAT 시행 경험을 통해 헌혈자에서의 HBV 양성률을 구하고, 그 결과를 HBsAg 검사만 시행할 경우와 비교하여 HBV NAT의 유용성에 대해 알아보고자 함이다.

방법(Methods) : 2011년 5월부터 2012년 7월까지 한마음혈액원에 헌혈한 혈액을 대상으로 하였다. Novartis사의 Procleix TIGRIS System에 Procleix Ultrio assay 시약을 사용하여 HIV, HCV, HBV를 동시에 검출하는 선별초회검사를 시행하고, 선별초회검사 결과 양성인 경우 각 virus에 대한 구별검사를 시행하였다. 이러한 과정을 거쳐 전체 헌혈자 중에서 NAT 결과 HBV 양성의 비율과, 이들에 시행한 HBsAg 검사 결과를 비교하였다.

결과(Results) : 총 204,093개의 헌혈 혈액에 대해 검사가 시행되었으며, 선별초회검사 양성은 227건이었고 이 중 145건에서 HBV 양성 결과를 보여 전체 헌혈 혈액 중 HBV 양성률은 0.07%로 확인되었다. NAT에서 HBV 양성인 145건 중 111건은 HBsAg 양성이었으나 34건에서는 HBsAg 음성 결과를 보여 총 23%에서 검사 결과 불일치를 보였다.

결론(Conclusions) : 본 연구에서는 단일 혈액원에서 자발적 헌혈자들에 대해 HBV NAT를 시행하여 HBV 양성률을 산출하였다. 또, NAT 결과와 HBsAg 검사 결과를 비교하여, HBsAg 단독 검사만 시행했을 경우 전체 HBV 양성 혈액 중 23%의 혈액은 걸러내지 못함을 알 수 있었다. 이 23%의 혈액은 항체 미형성기나 변이형 HBV, 또는 OBI에 해당하는 경우일 것으로 추측할 수 있으며, 이 결과를 통해 헌혈 혈액의 선별검사에 HBV NAT를 도입함으로써 HBV 양성 혈액을 더욱 민감하게 검출할 수 있고 더 나아가 수혈전파감염의 빈도도 줄일 수 있을 것으로 사료된다.

NBM-200 장비를 이용한 헌혈자 헤모글로빈의 측정

연세의료원 세브란스병원 진단검사의학과
노연희 · 이은경 · 김신영 · 김현옥

배경(Background) : 현행 혈액관리법에 따라 황산구리법에 따른 혈액비중검사, 혈색소검사, 적혈구용적률검사 중 한가지를 실시하여 헌혈자의 빈혈 여부를 검사하여야 한다. 본원에서는 혈액소검사 또는 적혈구용적률검사를 사용하고 있으나 추가적인 채혈로 인하여 헌혈자의 만족도 향상에 어려움이 있었다. 따라서 비침습적인 헤모글로빈 측정기 도입을 위하여 공식적인 방법과 함께 비교하여 성능을 평가하였다.

방법(Method) : 2012년 7월부터 2012년 9월까지 본원에 내원한 일반헌혈자 및 자가헌혈자 94명(헌혈군)과 혈장교환술과 치료적성분채집술을 위해 내원한 입원환자와 사혈술을 위해 내원한 외래환자 39명(환자군)을 대상으로 하여 비교 분석하였다. 비침습적 헤모글로빈 측정 장비인 NBM-200의 검사결과와 자동혈구분석기인 ADVIA 2120i의 헤모글로빈 값을 각각 측정 비교하였다.

결과(Result) : 헌혈군과 환자군의 헤모글로빈 측정치의 상관계수는 각각 0.6923, 0.8328로 모두 유의확률 0.0001이하의 우수한 상관관계를 보였다. 헌혈군과 환자군을 모두 합한 전체를 대상으로는 상관계수 0.802, 상관식 y (NBM-200) = 0.927 x (ADVIA)+ 0.802로 우수한 결과를 보였다.

고찰(Discussion) : 헌혈지원자의 빈혈검사는 혈액속의 적혈구를 측정하는 것으로 정상수치 이하인 헌혈자로부터 채혈하는 경우 헌혈자에게 건강상의 위험을 초래할 수 있으며 또한 수혈자에게 양질의 혈액을 공급할 수 없으므로 중요한 건강진단이다. 그러나 기존 방법은 통증, 재검사 등의 이유로 만족도 등이 낮았으나 새로 도입된 장비는 비침습적인 방법으로 통증이 없고 감염의 위험이 없으며 사용하기 편리하여 헌혈지원자의 만족도가 높았다. 그러나 본 방법은 침상에 누워있거나 빈혈이 심한 경우는 적합하지 않으며 손가락이 굵거나 얇은 경우는 측정이 불가능하며 헤모글로빈만 측정하기 때문에 치료목적으로는 사용하기 어렵다.

Duffy^{a}(Fy^{a})항원 음성 혈액 출고 증례 1예

인천적십자혈액원[1] · 중앙검사센터[2] · 가천대 중앙길병원[3] · 미8군121병원[4]
이충영 · 송창면[1] · 김종필 · 김종훈[2] · 김한규[3] · 남필순[4]

배경(Background) : 1950년 Mollison등에 의하여 혈우병으로 수혈을 자주 받은 경험이 있는 환자인 Mr. Duffy의 혈청에서 발견된 Duffy식 혈액형은 한국인에서 Fy^{a} 항원 음성 빈도는 0~0.03%이며 고빈도 항원으로 대응하는 항체는 용혈성 수혈 부작용과 신생아 용혈성질환의 원인이 되는 IgG에 속하는 면역항체이다. 본 증례는 Fy^{a} 항체를 가진 환자로 수혈을 위하여 한국인에서 매우 희귀한 Fy^{a} 항원 음성 혈액을 출고한 드문 경우이기에 증례 보고하고자 한다.
증례(Case) : 환자는 인천K병원에 입원한 80세 여성 급성골수성백혈병 환자로 CBC결과 Hb 6.7g/dL, Hct 19.9%, RBC 2.20*10-6/mm^{3}, 혈액형 및 항체동정검사결과 A(+)형, Anti-Fy^{a}가 검출되어 A형 Fy^{a} 항원음성 농축적혈구 6단위를 혈액원에 요청하였다. 즉시, 중앙혈액검사센터에 Fy^{a} 항원음성 혈액검사를 요청하여 보유하고 있던 A형 850검체에서 1단위를 확보한 후 미8군 121병원의 도움으로 적합혈액을 출고할 수 있었다. 이 과정에서 국내 Fy^{a} 항혈청 시약의 소진으로 검사에 어려움이 있었고 121병원에서도 A형 재고 부족으로 O형 적혈구농축액만 가능하다는 연락을 받고 해당 병원과 협의하여 A형 대신 O형으로 수혈이 이루어진 사례를 보고하는 바이다.
결론(Discussion) : 고빈도 항원인 Fy^{a}는 한국인 0.03%, 중국인 0.3%, 일본인 1.1%등 동양인에서 낮은 빈도를 보인 반면 백인 32%, 흑인 20%등 서양인에서 더 높은 항원 음성을 보이므로 이번 사례에서 보듯이 향 후 저빈도 항원이나 희귀혈액의 수혈 적합혈액 확보에 미8군 121병원의 협조가 필요할 것으로 사료되며 무사히 수혈을 할 수 있도록 도움을 주신 관계자 여러분들께 감사를 드린다.

성분채혈혈소판제제의 혈소판수(yield)에 따른 사용 실태 및 현황

한마음혈액원 제제공급팀
김희범 · 김자선 · 김정남 · 이정은 · 이원아 · 김종원

배경(Background) : 성분채집혈소판제제는 한 명의 헌혈자로부터 약 250ml의 혈소판제제를 채집하게 되는데, 이렇게 채집된 혈소판제제에는 3.0×10^{11} 개 이상의 혈소판이 들어 있다. 그러나 헌혈자의 혈소판 수나 현재의 건강상태, 장비의 문제 등으로 인하여 실제적인 혈소판수(yield)가 3.0×10^{11개} 이하인 경우가 많이 있다. 이런 경우 혈액을 공급 받는 의료기관에서는 혈소판수가 부족한 성분채혈혈소판제제에 대하여 사용여부의 결정을 서로 다르게 하고 있어 이에 대한 의료기관의 차이를 분석하고자 한다.

방법(Methods) : 한마음혈액원에서 2012년 1월부터 9월까지 채혈되어 공급된 혈소판제제에 대하여 전량 혈소판수(yield)를 확인하였다. 한마음혈액으로부터 백혈구제거 성분채혈 혈소판을 공급 받는 의료기관은 15 기관이며, 의료기관 별로 혈소판수(yield)에 따라 출고가능 및 출고불가의 기준을 확인하였다.

결과(Results) : 한마음혈액원에서의 2012년 1월부터 9월까지의 총헌혈량은 127,296 Units였고 그 중 성분채혈 혈소판은 11,733 units로 전체 헌혈량의 9.2%를 차지하였다. 그 중 실제 수혈용으로 공급한 혈소판의 량은 11,468units였으며, 채혈량 대비 출고율은 약 98%임을 확인하였다. 아울러 출고된 성분채혈혈소판제제의 평균 혈소판수(yield)는 3.56×10^{11} 개였으며 그 중 3.0×10^{11} 개 이상인 것이 10,359units로 90.3%를 차지하였다. 3.0×10^{11} 개 이하에서부터 2.5×10^{11}개 이상인 성분혈소판제제의 출고는 950units로 8.3%, 2.5×10^{11} 개 이하의 성분혈소판제제의 출고는 69units로 0.6%였다. 이상의 결과로 각 혈액청구기관의 혈소판수 별 공급유형을 확인하여 본 바 성분채혈혈소판제제의 혈소판수(yield)가 반드시 3.0×10^{11} 개 이상이어야만 공급받는 기관이 2기관이었으며, 2.5이상만 되면 공급받는 기관이 13개 기관으로 3.0에서 2.5×10^{11} 개 사이만 되면 협의없이 공급 가능한 기관이 1개 기관, 협의를 거쳐야만 하는 기관이 12개 기관으로 성분채혈혈소판제제의 혈소판수(yield)가 2.5×10^{11} 개 이상만 되면 성분혈소판제제의 공급에 문제가 없는 것으로 사료된다. 2.5에서 2.0×10^{11} 개 이상의 혈소판제제는 2개 기관에 2units가 공급되었으며 10 units는 혈소판수(yield)부족으로 폐기하였다.

고찰(Discussion) : 혈소판제제의 수혈은 혈소판감소증이나 혈소판기능장애를 가진 환자의 출혈예방 및 치료에 사용 되고 있는데, 최근 혈소판제제는 혈액종양 등의 환자들에 대하여 적극적인 치료에 따라 그 사용량이 급격히 증가되고 있다. 그러나 혈소판제제는 그 필요량에 비하여 실제 공급량이 부족한 실정이다. 또한 한사람으로부터 다량의 혈소판을 채혈하는 방식인 혈소판성분채혈혈소판제제는 약 1시간에서 1시간 30분 정도가 소요되는 관계로 지원자가 부족한 상황으로 혈소판제제의 공급에 어려움을 겪고 있는 실정이다. 혈수판제제의 공급이 부족한 현실에서 2.5×10^{11}개의 성분채집혈소판제제라도 혈소판의 보충이 필요한 환자에게는 큰 도움이 될 수 있을 것이라 사료된다. 추가적으로 성분채혈혈소판제제의 량(Volume)에 대해서도 재평가가 필요할 것으로 사료되며, 이같이 어렵게 채혈된 혈액제제가 기준 이하라고 하여 귀중한 혈액이 폐기되는 상황이 발생되어서는 안될 것이다.

2012년도 혈액검사학회 임원 및 평의원 연락처
(2012.4.)

구분	성명	근무처	전화번호	E-mail	휴대폰
고 문	변대훈	부천대성병원	032-610-1381,2	byun5415@hanmail.net	017-720-5415
	홍인표	고대보건대학	016-323-2776	iphong12@hanmail.net	016-323-2776
	최범열	을지대학교	2657-0040	brchoi10@naver.com	010-7149-6624
고문(혈액전문병리사 위원장)	함천경	서울대학교병원	02-2072-3510	ckham99@hanmail.net	010-9062-3986
학회장	이귀순	한양대병원	02-2290-8981	hmckslee@yahoo.co.kr	011-9731-8992
부학회장	양미숙	신촌세브란스	02-2228-6125,	clara@yuhs.ac	010-4242-2142
	최미옥	서울아산병원	02-3010-4455	t890378@hanmail.net	010-2318-6487
상임평의원	심문정	안산대학	031-400-6938	mjshim@ansan.ac.kr	010-6202-7020
	구본경	삼성서울병원	02-3410-6191	bonkyung.koo@samsung.com	010-3198-6361
	박주현	부천성모병원	032-340-2218	urijuhyun@hanmail.net	010-7274-2589
평 의 원	정재설	서울대학교병원	02-2072-2779	jaesel59@hanmail.net	010-3795-5912
	김은지	삼성서울병원	02-3410-2866	eunjee.kim@samsung.com	010-9933-2866
	윤광로	원주기독병원	033-741-1574	bpici@hanmail.net	010-9480-5341
	박종문	서울성모병원	02-2258-1654	sd2003@catholic.ac.kr	010-5347-2927
	강옥균	전남대병원	062-220-5354	okkang11@hanmail.net	010-6609-2265
	강효찬	동의과학대학	051-860-3523	mlskang@dit.ac.kr	010-3480-3171
	구본윤	대구카톨릭병원	053-650-4132	gubonyoun@naver.com	011-806-7226
	윤옥진	국립암쎈타	031-920-1327	ojyun@ncc.re.kr	010-9409-8044
	김일택	대전보건대학	042-670-9164	itkim@hit.ac.kr	010-8101-9716
	김화연	한양대병원	02-2290-8992	fairpond@hmc.hanyang.ac.kr	010-4231-5648
	양석환	충남대병원	042-280-7786	shyang@cnuh.co.kr	010-8814-5602
	권형범	부산해운대백병원	051-797-3167,8	kk9426@hanmail.net	010-6643-3623
	전상백	충북대병원	043-269-6248	jsp6780@naver.com	010-8283-6780
	조윤경	동남보건대학	031-249-6414	ykjo@dongnam.ac.kr	010-6218-2467
	최진희	전북대병원	063-250-1211	smmom@cuh.co.kr	010-9697-0451
	안미숙	신촌세브란스	02-2228-6128	ahn@yuhs.ac	010-8001-9094
간사(행정)	임혜정	서울대학교병원	02-2072-2777	64sinyoungm@hanmail.net	010-3276-1821
간사(학술)	이상호	서울대학교병원	02-2072-3942	lsh1998@daum.net	010-7124-7506
혈액전문 병리사 총무	나승찬	서울대학교병원	02-2072-3512	iamnasc@naver.com	010-8983-5921
감사	이지영	서울아산병원	02-3010-2011	jylee@amc.seoul.kr	010-2014-2407
	유기원	아주대병원	031-219-5779	ryuorigin@hanmail.net	010-4076-6705

2012년도 수혈검사학회 임원 및 평의원 연락처
(2012.10.)

구분	이름	근무처	전화번호	E-mail
고 문	변대훈	부천대성병원	010-4720-5415	byun5415@hanmail.net
	홍인표	고대보건과학대	010-3238-2776	iphong12@hanmail.net
	최범열	을지대학교	010-7149-6624	brchoi10@naver.com
학 회 장	김동찬	서울대학교병원	010-2763-5525	welcomekdc@hanmail.net
부학회장	박현준	서울아산병원	016-266-4462	phj41@yahoo.co.kr
	김종훈	중앙혈액검사센터	018-259-1132	jhkim9001@redcross.or.kr
	배인철	세브란스병원	010-6508-7533	icbae@yuhs.ac
상임평의원	곽영국	서울대학교병원	010-2304-6773	kwak6773@hanmail.net
	김은영	삼성서울병원	010-3548-6193	a294392@hanmail.net
	이창희	보라매병원	010-9706-7198	abcdlch@yahoo.co.kr
간사(학술)	임민규	서울대학교병원	010-8902-0715	agwolf@naver.com
간사(행정)	김진석	서울아산병원	010-9308-0414	bbjin72@naver.com
평 의 원	고중석	서부혈액원	010-3239-2049	freei@redcross.or.kr
	김갑숙	광주혈액원	010-4609-7144	hjm0415@redcross.or.kr
	김상철	경남혈액원	010-5241-3510	61sckim@redcross.or.kr
	김성숙	중부혈액검사센터	010-3080-3394	ksspop@redcross.or.kr
	김한규	가천의대길병원	010-4192-3442	succung2424@hanmail.net
	김현주	삼성창원병원	010-8554-7263	zoogo00@naver.com
	김희범	한마음혈액원	010-8831-4526	bum6223@naver.com
	남필순	121병원	010-8612-7189	nampilsun@hotmail.com
	박경희	단국대학교병원	010-4130-4283	bankpkh@hanmail.net
	박영나	화순전남대병원	010-3301-2113	minuet1@hanmail.net
	박종석	대구보건대학	010-8277-5005	antpro@hanmail.net
	서무원	동부혈액원	010-3558-7136	dkyong2@redcross.or.kr
	송영선	서울성모병원	010-5382-3607	marine@catholic.ac.kr
	유영희	대구혈액원	010-9025-8167	yooyh0808@redcross.or.kr
	이동실	부산고신대학병원	010-8520-8765	dslee1796@hanmail.net
	이희자	대전혈액원	010-7635-4300	kaya40@redcross.or.kr
	장남진	강원혈액원	010-6810-1321	njjang@redcross.or.kr
	장순모	진주보건대학	010-9507-1056	smchang54@hanmail.net
	조동직	부산혈액원	010-2475-9012	jdj56@redcross.or.kr
	조민균	전북혈액원	010-5529-0683	mgjo@redcross.or.kr
	지영천	중앙혈액검사센터	010-4915-3980	alba1203@redcross.or.kr
	채금란	순천향병원(서울)	010-2280-6940	ran2624@schmc.ac.kr
	최인열	원주기독병원	010-3075-3487	cir58@naver.com
	최진규	남부혈액검사센터	010-2627-1563	choi3322@yahoo.co.kr
	황석연	대전대학교	010-9429-4175	syhwang@dju.ac.kr
감 사	최재열	고대구로병원	010-2218-6627	thanga@hanmail.net
	임승렬	한림대강남성심병원	010-4201-0185	fervim@kg21.net

대한임상검사학회지 논문투고규정

제1조 논문 원고(이하 원고)의 투고는 원칙적으로 전년도 회비를 납부한 회원과 임상병리 관련분야의 종사자로 한다. 단, 편집부의 청탁 원고는 예외로 한다.

제2조 본 학술지(대한임상검사학회지)는 대한임상검사학회의 공식학술지로서 매년 3월, 6월, 9월, 12월말에 발간한다. 원고는 임상병리검사과학 및 이와 관계되는 것으로 하며, 타지에 이미 게재된 같은 내용의 원고는 게재하지 않으며 본지에 게재된 것은 임의로 타지에 게재할 수 없다.

제3조 원고제출자의 성명, 소속, 그리고 제목, 중심단어, 교신저자 내용은 영문으로만 기록한다.

제4조 원고는 국문 혹은 영문으로 작성할 수 있으며, 원고의 종류는 연구논문(원저), 증례보고 및 편집위원회에서 위촉한 종설과 조사보고서 등으로 한다. 원저 및 증례보고는 반드시 영문초록(abstract)을 첨부하여야 한다.

제5조 원고의 작성요령은 다음과 같다.

1. 국·영문 가로쓰기로 하되, Table과 Figure(이하 Fig.)를 포함하여 A4용지 10매 이내로 하고, 그 이상일 경우 인쇄비를 부담시킬 수 있다.
2. 원고 작성시 의미의 혼동이 없는 것은 모두 한글로 하고, 학술용어는 의학용어집(제4집, 대한의사협회편, 2001)와 필수의학용어집(제4.5집, 대한의사협회편, 2005) 그리고 해부학용어(다섯째판, 대한해부학회, 2005)에 등재된 국문 용어를 사용하고, 용어의 원활한 이해를 위해 처음 본문 중에 나타났을 때 영문을 병기할 수 있다. 부득이한 경우(인명, 지명)는 원어로 쓴다.
3. 괄호( )를 사용할 때의 띄어쓰기는 괄호( ) 앞에 영문이나 숫자가 올 때는 띄어쓰기를 하고, 국문이 올 때는 띄어쓰기를 하지 않고 붙여서 쓴다. 또한 국·영문 모두에서 단위 앞은 한 칸씩 띄운다(단, %와 ℃는 예외로 한다.).
   (예1) alkaline phosphatase (AP)은
   (예2) 대장균군(coli-form bacteria)은
4. 기타 원고 작성은 다음과 같이 한다.
   1) 원고 작성 프로그램 : 흔글 97 이상
   2) 글자모양 : 글자체-신명조, 장평-100, 자간-0, 글자크기-10P
   3) 문단모양 : 좌우여백-0, 문단위· 아래 간격-0, 줄간격-160, 낱말 간격-0, 정렬방식-양쪽 혼합, 한단 쓰기

제6조 인명, 지명 기타의 고유명사는 원어체로 하며, 학명(종, 속명)은 반드시 이탤릭체(기울임체)로 하며, 처음 표기 시에는 전체이름을 풀어서 표기하고(예 : *Escherichia coli*), 그 이후는 속명이름을 약하여 표시한다(예 : *E. coli*). 단 균속 이름을 약하여 표기 시 다른 균명과 혼돈이 있으면 약하지 않는다. 그러나 학명이 아닌 경우는 이탤릭체로 표시하지 않는다.

(예1) 이탤릭체로 표시하는 경우 : *E. coli*, *Parpovavirus*, *Simplexvirus*

(예2) 이탤릭체로 표시하지 않는 경우 : Coagulase-negative staphylococci, Hepatitis B virus

제7조 숫자, 단위, 신뢰도, 약어, 장비, 시약 표시

1. 숫자는 아라비아 숫자로 기록하며, 1000 이상의 아라비아 숫자로 표시할 경우에는 천 단위로 쉼표를 사용한다(예, 1,234, 혹은 5,678.01 등).
2. 도량형에 관한 것은 미터법으로 표시하며, 단위는 국제표준단위(SI 단위)를 사용함을 권장한다. Liter는 대문자 L로 표시한다.
3. 신뢰도를 나타내는 p는 소문자 이탤릭체로 표기하며 부등호와 붙여 쓴다(예, $p<0.001$)
4. 영문 또는 영문약자를 사용할 때는 영문초록, 본문, 국문요약 각 항에서 첫 번째 사용시에 전 단어를 표기하고, 약자를 제시한다. 단, 제목에는 약자를 사용하지 않는다.
5. 기계 및 장비의 경우 괄호( ) 안에 모델명, 제조회사, 도시, (주), 국적을 기입한다.
6. 시약의 경우 일반명을 쓰는 것이 원칙이며, 일반명과 함께 상품명을 쓰고 싶을 때에는 괄호( ) 안에 쓴다. 상품명을 쓸 경우에는 제조회사, 도시, (주), 국적을 괄호( ) 안에 쓴다.
7. 상품명을 뜻하는 TM, ® 등은 꼭 필요한 경우가 아니면 쓰지 않는다.
8. 출처가 표기된 장비나 시약을 다시 표기하는 경우 제조회사만을 괄호 안에 기입한다.
9. 영문초록 및 국문초록에 장비나 시약을 표기할 때는 제조회사와 국가만을 표시한다.

제8조 Table과 Fig.는 다음의 형식으로 기재한다.

1. 표와 그림의 번호는 Table 1, Table 2, Fig. 1, Fig. 2 등의 형식을 취하며 Table은 모두 순서대로 정렬하여 참고문헌 뒤에 배치한다. Fig.는 모두 Powerpoint 파일(PPT)에 순서대로 삽입하여 별도로 제출한다.
2. 본문에서 인용되는 순서에 따라 번호를 붙이며, Table의 제목은 상단에, Fig.의 설명은 하단에 표시한다. Table의 제목에는 마침표(.)를 쓰지 않고, Fig.의 설명에는 마침표를 쓴다.
3. Table에는 불필요한 종선을 긋지 않으며, 횡선도 가급적 사용하지 않는다. Table 제목의 제 1열은 왼쪽에 정열시키며, 제 2열부터는 가운데 정렬을 원칙으로 한다.
4. Table의 각주는 어깨글자 설명, 약어 설명의 순으로 하며, 어깨글자 설명과 약어 설명 사이에는 반드시 줄을 바꾸어 쓴다.
6. 어깨글자는 위첨자로 쓰되, 위치는 단어의 우측에 *, †, ‡, §, ‖, ¶, **, ††, ‡‡의 순서로 사용하고 숫자나 알파벳은 사용하지 않는다. 여러 어깨글자의 설명은 다음 예와 같은 형식에 따른다.

(예) *not tested ; $^{\dagger}p<0.05$

7. Table에 표시된 약어는 모두 하단에 설명을 첨부한다. 약어 설명은 다음 예와 같은 형식을 따른다. Table마다 약어 설명이 중복될 경우에는 'See Table 1.'과 같이 표시한다.
   (예) Abbreviation: NG, No growth; SG, slightly growth.
8. Fig.가 현미경 사진일 경우에는 염색방법과 배율을 표기하여야 한다.
9. Fig.가 두 개 이상의 그림으로 구성될 때는, 각 그림에 "A", "B", "C" 등으로 표시하고, Fig. 설명(legend)에 'A. 설명, B. 설명'과 같이 각각 설명하거나 한꺼번에 설명하고 괄호 속에 각 그림을 표시할 수도 있다.

제9조 논문 작성의 체계는 다음과 같다.

1. 논문 작성의 순서는 다음과 같이 한다.
   1) 제목, 저자 및 소속(모두 영문)
   2) 영문 초록
   3) 중심단어(Key words)와 교신저자 연락처
   4) 본문
   5) Tables
   6) Fig.는 별도의 PPT 파일을 첨부한다.
2. 제목은 영문으로만 작성하며 출판 시 머리말로 사용할 요약된 짧은 제목(short title)을 병기한다.
3. 저자명(영문)은 이름을 앞에, 성을 뒤에 두며 다음 예에 따른다.
   1) 1인 저자인 경우 : Yoo Sin Kim
   2) 2인 저자인 경우 : Yoo Sin Kim and Soon-Sin Lee
   3) 3인 이상의 저자인 경우 : Yoo Sin Kim, Soon-Sin Lee, and Gildong Hong
4. 저자의 참여 기관이 2곳 이상의 경우에는 저자명, 기관명에 아라비아 숫자로 어깨번호를 붙이고, 소속은 다음의 예와 같은 형식으로 기술한다.
   (예) Yoo Sin Kim[1], Soon-Sin Lee[1], and Gildong Hong[2]
   Department of Laboratory Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul 110-744, Korea[1],
   Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University, Iksan, 570-750, Korea[2]
5. 영문 초록은 영문 250 단어 이내로 작성하며 하나의 문단 단락으로 기술한다.
6. 중심단어(Key words)는 영문 단어 3~5개를 선정하여 초록 하단에 기재한다. 중심단어는 Index Medicus의 Medical Subject Heading (MeSH)를 참조하여 선택하는 것을 권장한다(http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html). 영문초록이나 국문요약에는 어떤 기기, 시약의 제조사, 도시, 국가 등을 모두 기술하지 않고, 간단히 제조사와 국가만을 표시한다.
7. 교신저자(Corresponding author)의 내용은 다음의 예와 같이 기록한다.
   (예) Corresponding Author : Kim, Yoo Sin. Department of Laboratory Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul 110-744, Korea.
   Tel: 010-1111-4444. E-mail: kimyoosin@snuh.org

8. 본문 작성은 다음과 같이 한다.
   1) 원저의 경우
      Ⅰ. 서론(Introduction)
      Ⅱ. 재료 및 방법(Materials and Methods)
      Ⅲ. 결과(Results)
      Ⅳ. 고찰(Discussion)
      (감사의 글), 참고문헌(Reference).
   2) 증례보고의 경우
      Ⅰ. 서론(Introduction)
      Ⅱ. 증례(Cases)
      Ⅲ. 고찰(Discussion)
      (감사의 글), 참고문헌(Reference).
   3) 종설의 경우
      집필자의 투고 구성을 수용한다.
   4) 결과(Results)를 기술할 경우 고찰의 내용을 기술하지 않으며, 고찰(Discussion)에는 서론이나 결과에 기술된 내용을 중복하여 기술하지 않고, 별도의 결론을 번호를 넣어 요약하지 않는다.
9. 본문 중 문헌내용은 다음 예에 따른다.
   1) 1인 저자인 경우 : Kim (1998), 김(1999),
   2) 2인 저자인 경우 : 김과 이(1997), Robbert와 Liouis (1984)
   3) 3인 이상의 저자인 경우 : 김 등(1996), Hiramatsu 등(1996)
   4) 괄호 내에 표기할 경우에는 국·영문 구분 없이 오래된 문헌부터 최근 문헌까지의 연도순으로 한다.
      (예1) 국문 원고의 경우 : (Robert와 Liouis, 1984; Hiramatsu 등, 1996; 김과 이, 1997)
      (예2) 영문 원고의 경우 : (Robert and Liouis, 1984; Hiramatsu *et al*, 1996; Kim and Lee, 1997)
10. 참고문헌은 영문, 국문의 순서로 하고, 영문은 알파벳 순서로, 국문은 가나다 순서로 한다.
   1) 참고문헌의 영문잡지명은 Index Medicus의 공인된 약어를 사용하며. 이탤릭체로 기록한다. 이는 NCBI의 Journal database (http://www.nlm.nih.gov/serials/journals/index.cfm)에서 확인할 수 있다. 잡지의 부록(supplementary volume)인 경우에는 46(부록 2) 혹은 26(S1) 등으로 표시한다. 영어 이외의 외국어로 된 논문의 제목은 영어로 번역된 것으로 작성함을 원칙으로 한다.
   2) 잡지 : 저자명. 제목. 잡지명. 연도, 권수 : 면수.
      영문저자명은 성과 이름(약어)로 기술하며 ‘,’로 연결한다. 저자가 6인 이하면 전원을, 7인 이상이면 6인만을 기록하고 등(, *et al.*)을 첨부한다.
      (예1) Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B, *et al*. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med.* 1991, 324:1149-1155.

(예2) 김유신, 이순신, 홍길동. *Vibrio vulnificus*의 생물학적 성상과 생물형. 대한임상검사학회지. 2005, 37(1):23-27.

3) 단행본 : (편)저자명. 단행본명. 판수, 연도, 면수. 출판사명, 발행지명.
편저자가 복수일 경우는 2인까지만 기술하고 등(, *et al.*)으로 표현한다.

(예) Albert B, Bray D. Molecular biology of the cell. 3rd eds, 1994, p491-499. Garland Publishing, New York.

(예) 김유신, 이순신, 홍길동. 진단병원미생물학. 제3판, 1999, p12-16, 한국의학, 서울.

4) 단행본 내 단원 : 단원저자명. 단원제목. In: (편)저자명. 단행본명. 판수, 연도, 면수. 출판사명, 발행지명. 편저자가 복수일 경우는 2인까지만 기술하고 등(*et al.*)으로 표현한다.

(예) Allen SD. Gram-positive nonsporeforming anaerobic bacilli. In: Lennette EH, Balows A, *et al.* Manual of clinical microbiology. 4th eds, 1985, p461-472. American Society for Microbiology, Washington DC.

5) 기관이나 단체가 저자일 경우는 저자명에 기관이나 단체의 약어를 사용할 수 있다.

(예) CLSI Guideline 문헌 예

CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Sixteenth Informational Supplement. CLSI document M100-S16. 2006, p96-97. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania.

6) 온라인 상의 참고문헌 : 저자명. 제목(혹은 인터넷주소 이름, 혹은 잡지명). 온라인주소(URL), 최종방문일 혹은 확인일.

(예1) 질병관리본부. 감염병 웹통계 시스템. http://stat.cdc.go.kr/, 2011-03-04에 최종방문.

(예2) KCDC. Disease Web Statistics System. http://stat.cdc.go.kr/, last visited on 04 March 2011.

11. 감사의 글(Acknowledgments) : 일반적인 감사와 그 외에 이해관계에 대한 명시의 필요가 있는 것은 모두 기술한다.

제10조 원고의 채택, 게재 순서 및 체재는 편집위원회에서 결정하며, 본 규정에 맞지 않는 논문은 수정을 권유하거나 게재를 보류한다.

제11조 논문의 접수, 심사, 게재 결정

1. 접수된 논문은 편집간사가 수시로 접수하여 투고규정에 대하여 검토하고 전문 심사위원에게 심사를 의뢰한다. 심사를 보낸 원고에 대하여 논문접수증을 발송한다.
2. 논문 심사는 1편당 2인 이상의 전문심사위원이 심사하며, 심사위원 2인 이상이 수정후 게재로 판정할 경우, 저자는 즉시 저자수정을 하여 재심사를 받아야 한다.
3. 재심사의 결과 게재가 가능하면 편집간사는 편집위원장에 자료를 송부하며, 편집위원장은 게재가능 판단을 위해 통계 전문가에게 의뢰하여 통계적 측면에서 자문을 구할 수 있다.

4. 편집간사는 게재가 승인된 논문의 참고문헌의 교정을 실시하고, 또한 영문초록 교정자에게 교정 의뢰하며, 논문 투고자에게 게재증명서를 전자우편으로 전송한다 (게재승인일은 편집위원장이 '게재가능'으로 승인한 날짜이다).
5. 다음 원고에 대해서는 게재불가 판정을 내려 저자에게 전자우편으로 통보한다.
   1) 심사위원 3명 중 2명 이상에서 게재불가판정을 내린 경우
   2) 심사위원 심사 후 저자수정의뢰를 하였는데, 6개월 내에 답이 없는 경우
6. 저자 추가 및 삭제는 저자 전원의 자필 서명을 다시 받아 편집위원장이 결정한다.

제12조 편집위원회에서는 원고의 내용 중 필요할 때에는 원문에 영향을 미치지 않는 범위 내에서 논문투고규정에 맞도록 자구와 체제를 수정할 수 있다.

제13조 원고의 저자들은 논문의 내용에 대하여 의미있는 기여를 하였음과 그리고 원고에 대한 책임을 질 것을 공저자 전원의 확인 서명을 기록하여 원고와 같이 제출한다(별첨 1).

제14조 원고는 연중 접수하며, 협회 웹하드에 온라인으로 제출하며, 동시에 원고 본문과 논문 표지(별첨 1)와 저자 점검사항(별첨 2)의 모든 내용을 기록하고 자필 서명하여 편집위원회에 우편으로 접수하거나 스캔하여 논문과 함께 온라인 제출한다.
1. 편집위원회 주소 : 대한임상검사학회 편집위원회, (우) 136-860 서울시 성북구 종암 1동 25-10 대한임상병리사협회 회관 5층
2. 온라인 논문 제출
   1) Webhard 접속 (http://www.webhard.co.kr)
   2) ID와 비밀번호 입력 (ID: kamt5591, 비밀번호: 55915591)
   3) '대한임상검사학회지 접수처'에 파일 올리기

제15조 접수된 원고는 반환하지 않으나 미 게재된 원고는 반환할 수 있다.

제16조 본 학회지에서 게재를 신청하여 게재승인을 받은 모든 논문은 저작권 인계동의서(별첨 3)를 제출하여야 하며 논문에 대한 저작권은 대한임상검사학회지가 소유한다. 이 학회지에 실린 원저의 표 및 사진 등을 인용하기 위해서는 저자나 편집위원회의 승인을 받아야 한다.

제17조 이 학회지에 게재되는 논문은 순수연구 및 공공의 복리와 부합되는 것으로 제한한다. 사람을 대상으로 한 실험의 경우 반드시 설명된 동의서에 대한 기술이 있어야 한다. 사람 및 동물을 대상으로 하는 실험은 대한민국의 연구관련 규정을 준수하여야 한다. 환자의 병력번호, 이름, 기타 신원을 알 수 있는 사진 등은 싣지 않는다. 연구에 외부의 자금 지원이 있었을 경우 감사의 글 부분에 명확히 밝히도록 한다. 임상 연구의 경우 원고 제출 시 반드시 해당 기관의 임상연구심의위원회의 심의를 받았음을 증명하는 서류를 함께 제출하여야 한다. 대한임상검사학회는 게재된 논문에 기술된 연구 방법론이나 사용키트, 사용도구 등의 적합성에 대하여 보증하지 않으며, 게재된 논문은 저자의 의견을 반영할 뿐 대한임상검사학회의 의견과는 일치하지 않을 수 있다.

부 칙

본 규정은 1999년 1월 30일부터 시행한다.
본 규정은 2002년 11월 29일부터 시행한다.
본 규정은 2005년 7월 16일부터 시행한다.
본 규정은 2006년 2월 1일부터 시행한다.
본 규정은 2008년 1월 1일부터 시행한다.
본 규정은 2011년 1월 1일부터 시행한다.

[별첨 1]

KJCLS

THE KOREAN JOURNAL OF CLINICAL LABORATORY SCIENCE

논문 내용 공저자 확인서

대한임상검사학회 편집위원장 귀하

학 술 지 :	**The Korean Journal of Clinical Laboratory Science**
원고의 종류 :	**원저, 종설, 증례, 학회의뢰 조사보고서 (택 1)**
게재희망권호 :	년 월 호
제 출 일 자 :	년 월 일
저 자 :	
제 목 :	
요 약 제 목 :	

공저자 확인

1. 본인은 본 논문의 내용이 의미있는 기여를 하였습니다.
2. 본 투고 논문에 대한 내용이 과학적 사실에 어긋남이 없음을 확인합니다.

년 월 일

제1 저자 : _____ (서명)
제2 저자 : _____ (서명)
제3 저자 : _____ (서명)
제4 저자 : _____ (서명)
제5 저자 : _____ (서명)
제6 저자 : _____ (서명)
제7 저자 : _____ (서명)

KJCLS

THE KOREAN JOURNAL OF CLINICAL LABORATORY SCIENCE

저 자 점 검 사 항

저 자 :

논문제목 :

일반사항

1. 이 논문은 다른 학회지에 개재가 안되었으며, 게재 예정도 없다. ····· □
2. 원고는 A4용지에 160% 간격으로 작성하였다. ····· □
3. 원고의 양은 Table과 Fig.를 포함하여 10매(증례는 7매) 이내이다. ····· □

공저자 확인

1. 저자 전원이 자필서명을 하였다. ····· □
2. 연구비에 대한 사항을 적었다(해당되는 경우). ····· □

영문초록

1. 단락나눔없이 개요, 연구목적, 방법, 결과, 고찰을 요약하여 작성하였다. ····· □
2. 250단어 이내로 작성하였다. ····· □
3. 3-5개의 영문중심단어를 기재하였다. MeSH 목록을 확인하였다. ····· □
4. 논문 교신저자의 연락처(우편번호 및 주소, 전화, 팩스, 이메일주소)를 명기하였다. ····· □

본문

1. 참고문헌을 투고규정에 의거하여 괄호( )속에 기재하였다. ····· □
2. 본문의 구성 및 표기법 등은 투고규정에 어긋남이 없이 작성하였다. ····· □

참고문헌

1. 투고규정을 준수하였다. ····· □
2. 학술지의 표기는 NCBI의 공인된 약어를 사용하였다. ····· □

Table과 Figure

1. Table과 Fig.를 중복되지 않도록 작성하였다. ····· □
2. Table과 Fig.를 투고 규정에 맞도록 작성하였다. ····· □
2. Fig.를 Powerpoint 파일에 모으고 별첨하였다. ····· □

이 논문의 저자(들)은 대한임상검사학회지의 투고규정에 따른 위의 사항들을 확인하였습니다.

년 월 일

교신저자: _____ (서명)

KJCLS

THE KOREAN JOURNAL OF CLINICAL LABORATORY SCIENCE

저 작 권 인 계 동 의 서

대한임상검사학회장 귀하

학 술 지 :	**The Korean Journal of Clinical Laboratory Science**
게재예정권호 :	권 호
발행예정년월 :	**20** 년 월
접 수 번 호 :	**KJCLS-**
저 자 :	
제 목 :	

위 논문의 저작권 중 일부를 본 잡지의 발행인인 대한임상검사학회지로 인계합니다.

1. 저자들은 본 논문의 판권을 가지며 논문의 내용에 책임을 집니다.

2. 저자들은 본 논문의 내용을 저자의 다른 논문, 교과서, 강의록 등의 출판에 이용할 수 있습니다.

3. 본 잡지의 발행인은 위 잡지 해당 권 호에서 위 논문의 인쇄를 허락 받아 인쇄하며 이에 대하 여는 저자로서 이의를 제기할 수 없습니다.

4. 본 잡지 발행인은 저자나 본 잡지 발행인의 허락 없이 타인에 의해 이루어지는 저작권 침해에 대하여 이의를 제기할 권리가 있습니다.

위와 같은 내용에 동의합니다.

년 월 일

저자대표 : _____ 서명: _____

초록(포스터)규정 (규격: 90cm×120cm)

ABSTRACT FORM
(2011년 추계 학술대회)

성명(한글) :　　(영문)
근무처(한글) :　　(영문)
근무처 주소 :
전화 :　　Fax :
발표방법 : 구연(　), 포스터(　)
분야 : 혈액(　), 수혈(　), 임상화학(　), 미생물(　), 조직·세포(　), 면역·혈청(　)
핵의학(　), 공중보건학(　), 임상생리학(　), 경영관리(　), 기타(　)

제목 (Title)	
배경 (Background)	
방법 (Methods)	
결과 (Results)	
고찰 (Discussion)	

편 집 위 원 회

혈액검사학회

이귀순(위원장)
양미숙
최미옥
심문정, 구본경, 박주현, 이상호, 임혜정

	The Korean Journal of Technical Hematology
발행인 이귀순	*Publisher* Lee, Kuy Soon
편집인 최미옥	*Editor* Choi, Mi Ok

수혈검사학회

김동찬(위원장)
김종훈
박현준
배인철
곽영국, 이창희, 김은영, 임민규, 김진석

	The Korean Journal of Blood Transfusion Laboratory Science
발행인 김동찬	*Publisher* Kim, Dong Chan
편집인 박현준	*Editor* Park, Hyun Jun

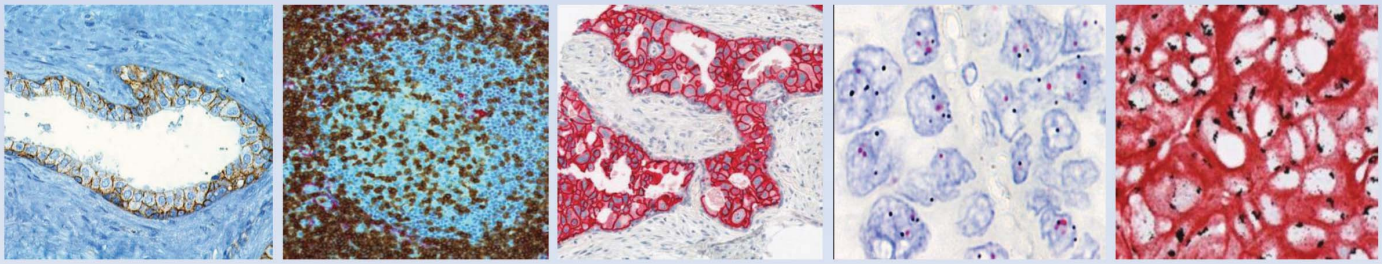
제14권 제1호(통권 제14호)	(Vol. 14, No. 1)
2012년 10월 30일 인쇄 2012년 11월 2일 발행	The Korean Journal of Technical Hematology The Journal of Blood Transfusion Laboratory Science
발행소 사단법인대한임상병리사협회 혈액검사학회 · 수혈검사학회 (110-744) 서울 종로구 연건동 28번지 *TEL* 02)2072-3942,2569 *FAX* 02)762-5285	*Published by* The Korean Society of Technical Hematology The Journal of Blood Transfusion Laboratory Science (110-744) 28, Yeongeon-Dong, Jongno-Gu, Seoul, Korea *TEL* 02)2072-3942, 2569 *FAX* 02)762-5285
인 쇄 한림원(주) *TEL* 02)2273-4201	

Ventana
BenchMark ULTRA

Any Test, Any Time

한국로슈진단은 차별화된 IHC/ISH 염색 자동화 장비를 제공 합니다

- IHC / ICC / Double Staining IF / ISH / SISH / Q-dot 동시 검사
- 30 장의 개별 슬라이드 트레이 사용
- 검사 중 새로운 검체 추가 가능
- 우수한 염색성
- 염색의 일관성



한국로슈진단㈜
서울시 강남구 대치동 1000-3번지 서경빌딩 4층 TEL : 02-550-3365 FAX : 02-550-3396
www.roche-diagnostics.co.kr

CELL-DYN
Sapphire

HIGH EFFICIENCY HEMATOLOGY

ANALYTICAL PERFORMANCE TO MEET YOUR NEEDS

■ High Efficiency Hematology

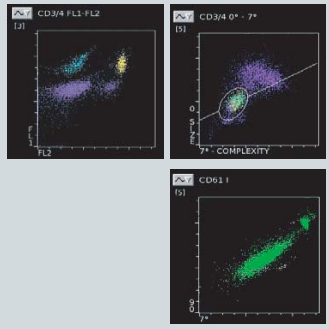
- Sapphire : Analytical performance
- PF 350 : Simple & Flexilble sample handling
- IM solution : Auto verification

■ Efficiency

- Full time NRBC Quantitation
- Fluorescent Reticulocyte analysis
- Full time dual angle Optical Platelets

■ Fully Automated Monoclonal Antibody Analysis

- Immuno T-Cell(CD3/4/8)
- Immuno Platelet(CD61)
- OpenFlow capacity for 3rd party Monoclonal Assay Application



Put science on your side.

자세한 내용은 한국애보트 주식회사 진단의학사업부 마케팅부로 연락주시기 바랍니다.
전화: (02) 3429-9227/9389 팩스: (02) (02)553-5614 홈페이지: http://www.abbott.co.kr
ADD-MKT 023 Rev01 10/2012

Abbott
A Promise for Life