

대한수혈학회지 : 제18권 제3호, 2007

## 고위험군 소아 신경모세포종에서의 말초혈액 자가 조혈모세포 이식술을 동반한 고용량 화학요법

김신영<sup>1</sup> · 이양순<sup>1</sup> · 유철주<sup>2</sup> · 백은정<sup>1</sup> · 김한수<sup>1</sup> · 이경애<sup>1</sup> · 김현옥<sup>1</sup>

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실<sup>1</sup>, 소아과학교실<sup>2</sup>

= Abstract =

### High Dose Chemotherapy and Autologous Peripheral Blood Stem Cell Transplantation in Pediatric Patients with High-risk Neuroblastoma

Sinyoung Kim<sup>1</sup>, Yangsoon Lee<sup>1</sup>, Chuhi-Joo Lyu<sup>2</sup>, Eun-Jung Baek<sup>1</sup>,  
Han-Soo Kim<sup>1</sup>, Kyongae Lee<sup>1</sup>, Hyun Ok Kim<sup>1</sup>

Departments of Laboratory Medicine<sup>1</sup> and Pediatrics<sup>2</sup>, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

**Background:** High dose chemotherapy followed by autologous peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) has become standard therapy for high-risk neuroblastoma patients. We performed a retrospective analysis to assess the characteristics of peripheral blood stem cell harvest (PBSCH) and PBSCT and its clinical outcome.

**Methods:** We reviewed 17 cases of patients with high-risk neuroblastoma that underwent PBSCH and/or high dose chemotherapy followed by PBSCT.

**Results:** Sixteen patients had stage IV neuroblastoma and one patient had a stage III neuroblastoma with *MYCN* amplification. The median age of the 17 patients was 43 months (range 22~114 months) and the median body weight was 15 kg (range 10~24 kg). After induction chemotherapy using a modified N7 protocol, 34 PBSCHs (1.5 leukapheresis per PBSCH) were performed. A statistically significant correlation was found between the pre-leukapheresis CD34<sup>+</sup> cell count and the total number CD34<sup>+</sup> cells of the harvested products ( $P < 0.0001$ ). Tyrosine hydroxylase mRNA was not detected by RT-PCR in all of the leukapheresis products. High dose chemotherapy followed by PBSCT was performed in 24 cases. The mean infused CD34<sup>+</sup> cell dose was  $4.01 \times 10^6$ /kg and WBC and platelet engraftment was performed on day 12.0 and 21.5, respectively. Eleven patients died, and six patients are surviving 11 to 68 months after PBSCT (median survival time, 35 months).

**Conclusion:** In this single institution study, treatment with high dose chemotherapy and PBSCT was performed

접수일 : 2007년 12월 6일, 승인일 : 2007년 12월 17일

책임저자 : 김 현 옥 120-752 서울시 서대문구 신촌동 134 연세대학교 의과대학 진단검사의학교실

TEL: 02) 2228-2444, FAX: 02) 313-0956, E-mail: hyunok1019@yuhs.ac.kr

\*This paper was supported by Seoul Research and Business Development Program (10816).

successfully for children with high-risk neuroblastoma. (Korean J Blood Transfus 2007;18:227-238)

**Key words:** High-risk neuroblastoma, Peripheral blood stem cell harvest, Peripheral blood stem cell transplantation

## 서 론

신경모세포종은 15세 미만에서 발생하는 악성 종양 중 7%를 차지하고, 소아에서 발생하는 가장 흔한 두개강외 종양으로 유아기에서도 가장 흔히 발견되는 악성 종양이다.<sup>1)</sup> 신경모세포종의 치료는 종양 치료 방법의 발전에 따라 치료성적이 향상되고 있으나, 고위험군 신경모세포종은 무병생존율이 40%를 넘지 못하며 그 예후 또한 좋지 않다.<sup>2)</sup> 신경모세포종의 위험도는 병기, 진단 당시의 나이, 종양의 특성(조직 병리소견, MYCN 유전자의 증폭 유무, DNA index, 등)에 따라 결정되는 것으로 알려져 있다.<sup>3,4)</sup>

고위험군 신경모세포종 환자에서는 기존의 단독 항암치료 대신 말초혈액 자가 조혈모세포 이식술을 동반한 고용량 화학요법이 표준화된 치료법으로 받아들여지고 있다.<sup>2,4)</sup> 말초혈액 자가 조혈모세포 이식은 골수 이식에 비하여 수집 시 전신마취를 필요로 하지 않고, 고용량 화학요법과 방사선요법 후 빠른 골수 기능의 회복을 나타내어 감염의 위험이 줄어들며 혈소판 수혈의 요구를 감소시키고, 수집된 세포가 종양세포에 오염되는 위험이 더 적은 등의 장점을 가지고 있다.<sup>5)</sup>

이에 저자들은 단일 기관에서 고위험군 신경모세포종으로 진단받은 환자를 대상으로 말초혈액 자가 조혈모세포 채집술과 이식에 관한 여러 인자들을 분석하고 말초혈액 자가 조혈모세포 채집을 동반한 고용량 화학요법을 이용한 치료법의 생존율을 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

2001년 5월부터 2006년 12월까지 세브란스병원에서 고위험군 신경모세포종으로 진단받고 말초혈액 자가 조혈모세포 채집술을 시행했던 20명 중 후향적으로 추적관찰이 가능하고, 고용량 화학요법 및 말초혈액 자가 조혈모세포 이식술을 받은 17명의 환자에 대한 의무 기록을 후향적으로 조사하여 그 치료성적을 분석하였다.

### 2. 병기 및 항암 화학 요법

신경모세포종의 병기는 International Neuroblastoma Staging System (INSS)<sup>6)</sup>을 기준으로 하였으며, 신경모세포종의 위험도 분석은 INSS에 의한 병기, 진단 당시의 나이 및 종양의 특성을 사용하는 Children's Oncology Group (COG) Neuroblastoma Risk Grouping 방법<sup>7)</sup>에 따라서 시행하였다. 고위험군 신경모세포종의 치료는 Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC)에서 시행하는 N7 protocol<sup>8)</sup>을 변형하여 시행하였으며, 이를 Table 1에 요약하였다.

### 3. 말초혈액 조혈모세포 채집술

대상군에서 CAV cycle (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine) 2차례와 P/VP cycle (cisplatin, VP-16) 1차례 항암 화학요법 환자가 완전관해 또는 부분관해 상태이면서 골수생검에서 종양이 증명되지 않고 tyrosine hydroxylase mRNA가 검출되

**Table 1.** N7 protocol

Chemotherapy
CAV×4 (1, 2, 4 and 6 courses)
Cyclophosphamide, 70 mg/kg/d (with mesna), day 0~1
Doxorubicin, 25 mg/m <sup>2</sup> /d, day 0~2
Vincristine, 0.022 mg/kg/d, day 0~2
P/VP×3 (3, 5 and 7 courses)
Cisplatin, 50 mg/m <sup>2</sup> /d, day 0~3
VP-16, 200 mg/m <sup>2</sup> /d, day 0~2
G-CSF until ANC recovers to >500/uL
Surgery
Gross total resection usually after 4 cycles of chemotherapy
Stem cell harvest
When marrow is histologically free of neuroblastoma

Abbreviation: ANC, absolute neutrophil count.

지 않으면, G-CSF (5~10 μg/kg)를 투여하여 조혈모세포 구동화 이후 말초혈액 조혈모세포 채집술을 시행하였으며, 필요에 따라 추가적인 항암 화학요법 이후 말초혈액 조혈모세포 채집술을 반복 시행하였다.

말초혈액 조혈모세포 채집은 말초혈액 백혈구가 최소 3,000/μL 이상으로 증가할 때 시작하였으며, 모든 환자에서 CS-3000 plus (Baxter Healthcare, Deerfield, USA) 장비를 사용하였다. 채집술을 위한 혈관은 쇄골하정맥 또는 대퇴정맥을 사용하였고, 항응고제는 acid citrate dextrose solution (500 mL, Baxter Healthcare)에 heparin (3,000 unit; 중외제약, 서울, 한국)을 혼합하여 사용하였다. 전혈과 항응고제의 혼합비율은 24 : 1로 조절하였다. 모든 환자가 체중 25 kg 이하의 소아 환아로서 체외 혈액량의 균형을 위해 ABO 동형의 백혈구 제거 방사선 조사 농축적혈구 1단위로 기기를 미리 priming한 후 시작하였다.

#### 4. CD34<sup>+</sup> 세포수 산정 및 tyrosine hydroxylase mRNA 검출

수집된 말초혈액 조혈모세포 산물에서 CD34<sup>+</sup> 세포수는 Stem-Kit (Beckman Coulter, Fullerton, USA)로 형광 염색 후 유세포분석기(Coulter EPICS XL; Beckman Coulter)를 이용하여 측정하였다. 말초혈액 조혈모세포 이식술 전 해동 후 조혈모세포 산물의 CD34<sup>+</sup> 세포의 생존율을 평가하기 위하여 7-AAD (7-amino-actinomycin D)를 첨가하여 분석하였다.

말초혈액 조혈모세포 산물에서 미세잔존 신경모세포종 세포를 검출하기 위하여 기존의 방법<sup>9)</sup>대로 tyrosine hydroxylase mRNA 역전사 중합효소연쇄반응(reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR)을 시행하였다. 방법을 요약하면, 검체로부터 RNA 추출 키트(TRIZOL reagent, BD Biosciences, Franklin Lakes, USA)를 이용하여 총 백혈구 RNA를 추출하고, First strand cDNA synthesis kit for RT-PCR (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)와 oligo-dT primer를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA를 시발체 TH1 (5'-TGTCAGAGCTGGACAAGTGT-3'), TH2 (5'-GATATTGTCTTCCCGGTAGC-3')로 1차 RT-PCR을 시행한 후, 시발체 TH3 (5'-GTTCGACCCTGACCTGGACT-3'), TH4 (5'-TGTACTGGAAGGCGATCTCA-3')를 이용하여 nested RT-PCR을 시행하여 증폭된 산물을 분석하였다. 정상 대조군으로는 β-actin을 사용하였다.

#### 5. 통계분석

통계분석은 SPSS 프로그램(version 11, SPSS Inc., Chicago, USA) 이용하였으며, 1차 백혈구 성분채집술과 2, 3차 백혈구 성분채집술에 있어서 각종 지표들의 차이는 Mann-Whitney U test를 시

행하였다. 또한 말초혈액 조혈모세포의 채집시기 결정의 예측인자로 말초혈액 내 백혈구 수, CD34<sup>+</sup> 세포수와 채집산물의 총 CD34<sup>+</sup> 세포수와의 상관관계와 말초혈액 조혈모세포 이식 시 투여한 CD34<sup>+</sup> 세포수와 백혈구 및 혈소판의 생착 시기의 상관관계는 Spearman 상관분석을 시행하였다. 사망과 재발을 사건으로 정의하여 본 연구 대상군의 무사건 생존율은 Kaplan-Meier 곡선을 이용하였으며, 분석시점은 2007년 11월말로 정하였다.  $P < 0.05$ 일 때 통계적으로 유의한 차이를 보인다고 판단하였다.

## 결 과

### 1. 환자군의 특성

총 17명의 고위험군 신경모세포종 환자에서 성별은 남자 9명, 여자 8명이었으며, 체중은 중앙값 15 kg (10~24 kg), 나이는 중앙값 43개월(22~114개월)로 1세 미만의 환자는 없었다(Table 2). 신경모세포종의 병기는 stage IV가 16예, MYCN 증폭이 관찰되는 stage III가 1예였으며, 신경모세포종의 원발 부위는 부신 15예, 종격동 1예, 후복막강 1예이었으며, 골수의 침범은 10예에서 발견되었다. 진단 당시의 요중 카테콜아민 대사 산물인 VMA (vanillylmandelic acid) 또는 HVA (homovanillic acid)는 검사가 시행된 12명 중 10명에서 증가한 소견을 보였다. 진단 당시의 평균 ferritin 혈중 농도는 418.3 ng/mL (42.5~894.1 ng/mL), 평균 neuron-specific enolase (NSE) 혈중 농도는 305 ng/mL (26~969 ng/mL), 평균 lactate dehydrogenase 혈중 농도는 2962 IU/L (638~18530 IU/L)로 검사가 시행된 모든 대상군에서 증가한 소견을 보였다. 이러한 고위험군 신경모세포종의 유도 항암화학요법은 Table 1에 표시한 대로 CAV

(cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine)과 P/VP (cisplatin, etoposide)을 정해진 순서에 따라서 시행하였다. 총 4~6주기의 유도 항암화학요법 시행 후 신경모세포종의 수술적 절제를 시도하였으며, 수술 시 종양의 크기가 매우 크거나, 완전 절제가 되지 않은 경우 국소 방사선요법을 추가하였다.

### 2. 말초혈액 조혈모세포 채집술

총 17명의 환자에서, 항암 화학요법 및 G-CSF 투여에 의한 말초혈액 조혈모세포 구동화를 실시하여 총 34회의 말초혈액 조혈모세포 채집술을 시행하였다. 34회의 말초혈액 조혈모세포 채집술에서 평균 1.5회(1~3회)의 백혈구 성분채집술이 시행되어, 총 52회의 백혈구 성분채집술이 시행

Table 2. Patient's characteristics

Characteristics	N	%
Age at diagnosis (months)		
Median (range)	43 (22~114)	
< 36	8	47
≥ 36	9	53
Weight at first leukapheresis (kg)		
Median (range)	15 (10~24)	
Sex		
Male	9	53
Female	8	47
Primary tumor site		
Adrenal gland	15	88
Mediastinum	1	6
Retroperitoneum	1	6
Bone marrow involvement		
Involve	10	59
Not involve	7	41
Urinary catecholamine metabolites		
Increased	10	59
Not increased	2	12
Not tested	5	29

되었다. 백혈구 성분채집술의 1회 평균 처리된 혈액량은 환자의 총 혈액량의 3.0배(1.8~4.8배)였으며, 시술 시간은 186분(90~300분)이었다. 백혈구 성분채집술 시행 전의 말초혈액내의 백혈구 수는 평균  $15,187/\mu\text{L}$  ( $2,160\sim 66,890/\mu\text{L}$ ),  $\text{CD}34^+$  세포수는 평균  $73/\mu\text{L}$  ( $1\sim 533/\mu\text{L}$ )이었으며, 백혈구 성분채집술 채집산물내의  $\text{CD}34^+$  세포수는  $1,770/\mu\text{L}$  ( $2\sim 10,320/\mu\text{L}$ ), 환자 체중 당  $\text{CD}34^+$  세포수는  $6.9\times 10^6/\text{kg}$  ( $0.0\sim 45.7\times 10^6/\text{kg}$ )이었다 (Table 3). 최종 채집산물의 체중 당  $\text{CD}34^+$  세포수는 채집 전 말초혈액  $\text{CD}34^+$  세포수와 통계적으로 유의한 상관관계가 있었다( $P<0.0001$ ) (Fig. 1). 말초혈액 조혈모세포 채집술 시행 전의 항암 화학요법의 횟수, 말초혈액 조혈모세포 구동화에 사용된 항암제 종류와 채집된  $\text{CD}34^+$  세포수와의 상관관계는 관찰되지 않았다(Data not shown). 말초혈액 조혈모세포 채집 후, 신경모세포종 세포의 오염여부를 알아보기 위해서 실시한 tyrosine hydroxylase mRNA RT-PCR 반응은 모두 음성이었다.

각 말초혈액 조혈모세포 채집술에 있어서 1차 백혈구 성분채집술과 2차, 3차 백혈구 성분채집술사이의 각종 변수를 분석한 결과 채집 전 말초혈액 내의 백혈구 수는 2차, 3차 백혈구 성분채집술에서 통계적으로 유의하게 높았으나( $P=0.003$ ), 그 외 채집 전 말초혈액 내의  $\text{CD}34^+$  세포수, 채집산물의  $\text{CD}34^+$  세포수 및 환자 체중당  $\text{CD}34^+$  세포수의 차이는 관찰되지 않았다.

### 3. 말초혈액 조혈모세포 이식술을 동반한 고용량 화학요법

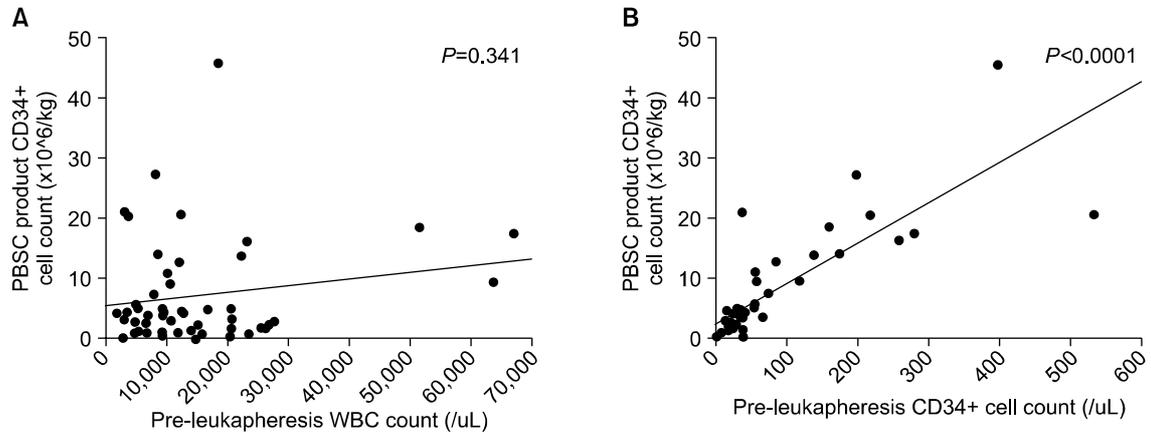
고용량 항암 화학요법을 동반한 말초혈액 조혈모세포 이식술은 총 14명의 고위험군 신경모세포종에서 24회 시행되었다. 17명의 대상군에서 3명은 수술 후 합병증으로 인한 사망, 고용량 화학요법으로 인한 감염의 원인으로 말초혈액 조혈모세포 이식술을 시행하지 못하였다. 이식술을 시행한 총 14명 중 2005년 이후 고위험군 신경모세포종으로 진단받은 6명에서는 고용량 항암 화학요법을 동반한 말초혈액 조혈모세포 이식술을 2회

**Table 3.** Results of 34 PBSCH of 17 patients with high risk neuroblastoma

	Total	1st leukapheresis	2nd & 3rd leukapheresis	P value
Total number of leukapheresis procedure	52	34	18	
Mean number of leukapheresis procedure/harvest	1.5 (1~3)			
Mean volume of processed blood ( $\times\text{TBV}$ )	3 (1.8~4.8)			
Total processing time/procedure	186 (90~300)			
Pre-leukapheresis peripheral blood				
WBC count ( $/\mu\text{L}$ )	1,5187 (2,160~66,890)	1,2763 (2,160~66,890)	1,9766 (6,910~63,610)	0.003
$\text{CD}34^+$ cell count ( $/\mu\text{L}$ )	73 (1~533)	75 (1~533)	69 (6~399)	0.957
Leukapheresis product				
$\text{CD}34^+$ cell count ( $/\mu\text{L}$ )	1,770 (2~10,320)	1,783 (2~7,640)	1,745 (172~10,320)	0.774
$\text{CD}34^+$ cell count/kg ( $\times 10^6$ )	6.9 (0.0~45.7)	6.8 (0.0~27.1)	7.2 (0.7~45.7)	0.893

The data in the parenthesis show the range.

Abbreviations: PBSCH, peripheral blood stem cell harvest; TBV, total blood volume.



**Fig. 1.** Correlation between PBSC product CD34<sup>+</sup> cell count and pre-leukapheresis WBC count (A), pre-leukapheresis CD34<sup>+</sup> cell count (B).

연속적으로 시행하였으며, 이후 임상치의 판단에 의하여 추가적인 이식술을 4명에서 시행하였다. 고용량 화학요법은 12건에서 etoposide (200 mg/m<sup>2</sup>, D-3~D-1), carboplatin (300 mg/m<sup>2</sup>, D-3~D-2), cyclophosphamide (2 g/m<sup>2</sup>, D-3~D-2) 조합으로 시행되었으며, 다른 12건에서는 cyclophosphamide 대신 melphalan을 투여하였다. 이식술 시 투여된 환자 체중 당 CD34<sup>+</sup> 세포수는 4.01×10<sup>6</sup>/kg (1.70~9.45×10<sup>6</sup>/kg)이었다. 이전 7일간의 수혈 없이 절대 중성구가 500/μL 이상인 백혈구 생착 소요기간은 12.0일(9~19일), 혈소판 수혈 없이 혈소판이 20,000/μL 이상인 혈소판 생착 소요기간은 21.5일(12~35일)이었다(Table 4).

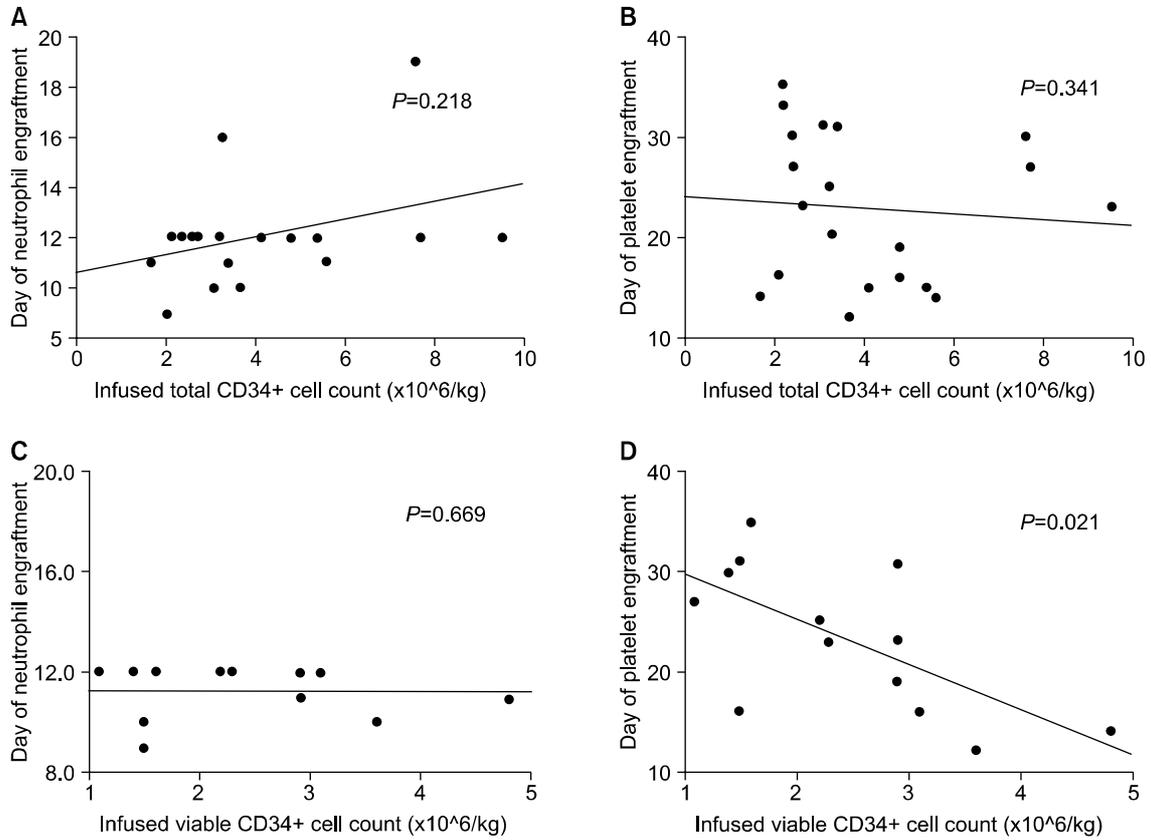
24회의 이식술 중에서 CD34<sup>+</sup> 세포의 생존율을 평가한 12건의 평균 CD34<sup>+</sup> 세포 생존율은 68.6% (30.5~99.3%)이었다. 또한, 이러한 생존 CD34<sup>+</sup> 세포수와 혈소판의 생착 소요기간에서만 통계적으로 유의한 상관관계( $P=0.021$ )를 보였으며, 그 외 총 CD34<sup>+</sup> 세포수와 백혈구 및 혈소판의 생착 소요기간, 생존 CD34<sup>+</sup> 세포수와 백혈구의 생착 소요기간 사이에는 유의한 상관관계를 보이지 않

**Table 4.** Results of 24 PBSTs of 14 patients with high risk neuroblastoma

No. of PBSTs	
1	8
2	2
3	4
Myeloablative regimen	
Etoposide, carboplatin, melphalan	12
Etoposide, carboplatin,	
cyclophosphamide	12
Infused CD34 <sup>+</sup> cell count/kg (×10 <sup>6</sup> )	4.01 (1.70~9.45)
CD34 <sup>+</sup> cell viability in thawed product (%)*	68.6 (30.5~99.3)
Day of engraftment (day)	
Neutrophil	12.0 (9~19)
Platelet	21.5 (12~35)

\*CD34<sup>+</sup> cell viability was assessed in 14 PBSTs.

Abbreviation: PBST, peripheral blood stem cell transplantation.



**Fig. 2.** Correlation between infused total CD34<sup>+</sup> cell count and days of neutrophil engraftment (A), days of platelet engraftment (B). Correlation between infused viable CD34<sup>+</sup> cell count and days of neutrophil engraftment (C), days of platelet engraftment (D).

았다(Fig. 2).

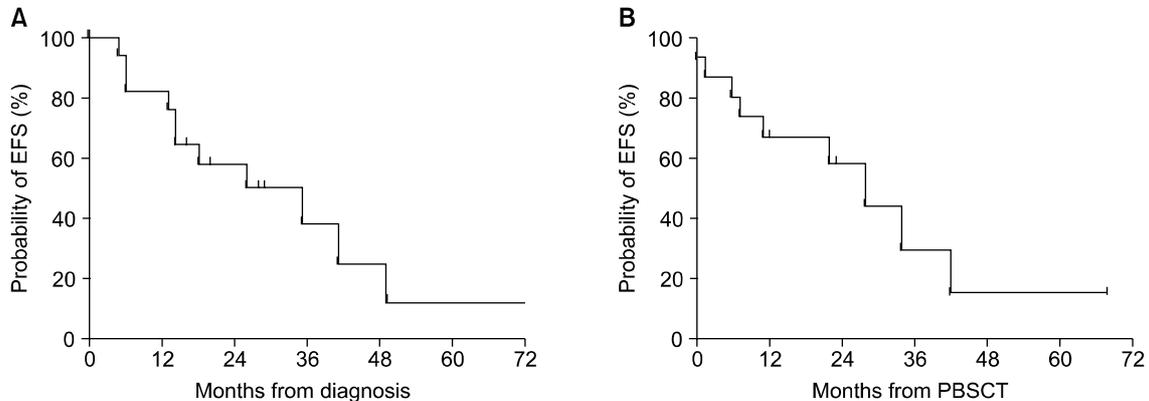
#### 4. 생존을 분석

고위험군 신경모세포종 환자 17명의 진단 시기로부터의 평균 생존기간(median survival time)은 35.0개월(95% 신뢰구간: 10.8~59.2개월)이었으며, 첫 번째 항암 화학요법을 동반한 말초혈액 조혈모세포 이식술을 시행한 시기로부터의 평균 생존기간은 28개월(95% 신뢰구간: 15.1~40.9개월)이었다. 또한, 5년 무사건 생존율은 14.6%였다(Fig.

3). 특히 2005년 이후 진단받아 고용량 항암 화학요법 및 말초혈액 조혈모세포 이식술을 2회 연속 시행한 6명의 환자 중 5명이 현재까지 생존해 있으나 추적관찰 기간이 짧아 통계적 처리는 시행하지 않았다.

#### 고찰

본 연구에서는 17명의 고위험군 신경모세포종 환자에서 시행한 34예의 말초혈액 자가 조혈모세



**Fig. 3.** Results of Kaplan-Meier analysis for the EFS. (A) Six out of 17 patients remained event-free with a median follow-up of 20 months (range 5~74) from diagnosis. (B) When the analysis was confined to only those who received PBSCT (n=15), median survival time was 28 months. Abbreviation: EFS, event-free survival.

포 채집술과 24예의 고용량 화학요법을 동반한 말초혈액 자가 조혈모세포 이식술을 후향적으로 조사하여 그 효과를 분석하였다.

성인에서는 비교적 안전하게 성공적인 말초혈액 조혈모세포 채집술을 시행할 수 있지만, 25 kg 이하의 저체중 소아 환자에서는 여러 가지 장애요인이 있다. 총 혈액량이 비해 상대적으로 큰 체외순환 혈액량, 충분한 혈류 속도를 유지하기 위한 혈관 통로(vascular access)의 확보, 전신적인 항응고제 투여의 영향, 채집술 후의 혈소판 감소증과 같은 혈액동력학적(hemodynamic) 및 대사성 장애가 발생할 수 있으며, 시술 도중 환자의 순응도에도 어려움이 있다.<sup>10,11)</sup> 본 연구에서는 체중이 평균 15 kg (10~24 kg)인 고위험군 신경모세포종 환자에서 말초혈액 조혈모세포 채집을 위한 백혈구 성분채집술을 52예 시행하였으며, 1회의 백혈구 성분채집술로 CD34<sup>+</sup> 세포 평균 6.9×10<sup>6</sup>/kg를 큰 부작용 없이 확보할 수가 있었다. 기존의 연구에서 말초혈액 조혈모세포 채집술의 시작 시기의 기준을 여러 가지로 제안하였지만, 본 연구에서

는 시술 전 말초혈액 내 백혈구의 수가 3,000/uL 이상으로 충분히 증가하는 것을 기준으로 하였다. 하지만, 말초혈액 조혈모세포 산물의 CD34<sup>+</sup> 세포 숫자의 예측인자로 시술 전 말초혈액 백혈구 수 및 CD34<sup>+</sup> 세포 수와 상관관계 분석에 의하면, 시술 전의 말초혈액 내 CD34<sup>+</sup> 세포의 숫자만이 중요한 예측인자임을 알 수 있었다. 또한, 말초혈액 내 CD34<sup>+</sup> 세포가 20/μL 이상이면 89%의 채집술에서 채집산물의 CD34<sup>+</sup> 세포수가 2×10<sup>6</sup>/kg에 이르러, 이를 기준으로 말초혈액 조혈모세포 채집술의 시작시기를 정하는 것이 합당하다고 판단되었다.

본 연구에서는 말초혈액 조혈모세포 채집술시 백혈구 성분채집술 1회만 시행한 경우가 16예, 2회 시행한 경우가 17예, 3회 시행한 경우 1예로 말초혈액 조혈모세포 채집술 1예 당 평균 1.5회의 백혈구 성분채집술을 시행하였다. 첫 번째 백혈구 성분채집술과 두 번째, 세 번째 백혈구 성분채집술 간에 조혈모세포 채집산물의 CD34<sup>+</sup> 세포 수는 통계학적 차이가 없었으며, 성분채집술 시

행진의 말초혈액 백혈구 수만이 두 번째, 세 번째 백혈구 성분채집술에서 더 높았다. 이는 성인을 대상으로 한 보고<sup>12)</sup>에서와 유사한 결과였으며, 소아에서도 1회 이상의 백혈구 성분채집술을 연속적으로 시행할 수 있음을 보여주는 결과이다.

말초혈액 조혈모세포 채집산물 내 미세 잔존 신경모세포종 세포의 존재 유무를 확인하기 위하여 기존의 연구에서 tyrosine hydroxylase 또는 GD2 synthase mRNA RT-PCR을 시행한 바가 있다. Burchill 등에 의하면 완전 관해 상태의 신경모세포종 환자 18명에서 시행한 말초혈액 조혈모세포 채집산물의 50%에서 tyrosine hydroxylase mRNA가 증폭되었고, 이 경우 환자의 예후가 더 나쁘지만 통계학적 유의성은 없었다고 하였다.<sup>9)</sup> Corrias 등은 stage IV 신경모세포종 환자의 말초혈액 조혈모세포 채집산물 27예 중에서 tyrosine hydroxylase mRNA는 11예, GD2 synthase mRNA는 24예에서 검출이 되었지만, 생존율과의 통계학적 유의성은 없다고 하였다.<sup>13)</sup> 반면, Handgretinger 등은 말초혈액 조혈모세포 채집산물에서 CD34<sup>+</sup> 세포의 purging을 시행한 24예 중에서 오히려 신경모세포종 세포의 혼입이 있는 경우 생존율이 더 높았다고 보고하였다.<sup>14)</sup> 본 연구에서는 말초혈액 조혈모세포 채집산물에서 tyrosine hydroxylase mRNA RT-PCR을 시행한 33예에서 모두 음성 결과를 보여, 생존율과의 통계학적 의미를 분석하지 못하였다.

본 연구에서는 총 24예의 항암 화학요법을 동반한 말초혈액 조혈모세포 이식술을 시행하였으며, 이식술 시 주입된 CD34<sup>+</sup> 세포수는 평균  $4.01 \times 10^6/\text{kg}$ 이었다. 이는 COG<sup>5)</sup>에서 고위험군 신경모세포종 환자의 말초혈액 조혈모세포 이식술 시에 권장되는 CD34<sup>+</sup> 세포수인  $2.5 \sim 5 \times 10^6/\text{kg}$ 에 합당한 소견을 보였다. 이들에 따르면, 이식술 시  $5 \times 10^6/\text{kg}$  이상의 CD34<sup>+</sup> 세포를 주입하여 기대할 수

있는 효과는 없으며, 오히려 목표가 되는 CD34<sup>+</sup> 세포수의 증가로 백혈구 성분채집술의 횟수를 증가시킨다고 하였다. 해동 후의 CD34<sup>+</sup> 세포 생존율 검사는 14예에서 시행되었으며, 평균 68.6%의 생존율을 보였다. 이는 Lee 등<sup>15)</sup>이 46예의 말초혈액 조혈모세포 이식술에서 71.2%, Allan 등<sup>16)</sup>이 36예의 말초혈액 조혈모세포 이식술에서 76%를 보고한 바와 유사한 결과를 보였다. 또한, 주입된 CD34<sup>+</sup> 세포수와 백혈구, 혈소판의 생착 소요기간과의 상관관계에서 오직 생존 CD34<sup>+</sup> 세포수만이 혈소판의 생착 소요기간과 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다. 이는 이전의 보고<sup>16-18)</sup>에서 밝힌 바와 유사한 결과이지만, CD34<sup>+</sup> 세포의 생존율 검사가 14예에서만 시행되어 추가적인 평가가 필요하다고 판단된다.

본 연구에서의 17명의 고위험군 신경모세포종 환자의 생존율은 평균 생존기간이 진단 시로부터 35.0개월, 5년 무사건 생존율이 14.6%로 그 예후가 불량하였다. 이는 대한소아혈액종양학회에서 1996년부터 2000년까지 전국적으로 자가 조혈모세포 이식을 시행한 60명을 대상으로 한 연구<sup>19)</sup>에서 4년 무사건 생존율이 36.8%, Klassen 등<sup>20)</sup>이 1세 이상의 stage IV 신경모세포종 55명을 대상으로 한 연구에서 이들의 5년 생존율을 22.7%로 보고한 것에 비하여 생존율이 낮게 계산되었다. 하지만, 본 연구에서는 타 병원으로부터 원발 신경모세포종을 수술할 수 없어 전원된 예와 말초혈액 조혈모세포 채집 및 이식술을 시행하지 않는 병원으로부터 치료 중간에 전원된 예 등 생존율에 큰 영향을 주는 요인들이 많아서 정확한 생존율을 평가하기에는 어려움이 있는 것으로 판단하였다.

## 요약

**배경:** 고위험군 신경모세포종 환자에서는 기존의 단독 항암치료 대신 말초혈액 자가 조혈모세포 이식술을 동반한 고용량 화학요법이 표준화된 치료법으로 받아들여지고 있다. 저자들은 단일 기관에서 고위험군 신경모세포종으로 진단받은 환자를 대상으로 말초혈액 자가 조혈모세포 채집술과 이식에 관한 여러 인자들을 분석하고 말초혈액 자가 조혈모세포 채집을 동반한 고용량 화학요법을 이용한 치료법의 생존율을 알아보려고 하였다.

**방법:** 2001년 5월부터 2006년 12월까지 세브란스병원에서 고위험군 신경모세포종으로 진단받고 고용량 화학요법 및 말초혈액 자가 조혈모세포 이식술을 시행한 17명의 의무기록을 후향적 분석을 시행하였다.

**결과:** 신경모세포종의 병기는 stage IV 16예, MYCN 증폭이 관찰되는 stage III가 1예였으며, 환자군의 나이의 중앙값은 43개월, 체중의 중앙값은 15.0 kg였다. 조혈모세포 구동화에 따른 34회의 말초혈액 조혈모세포 채집술에서 평균 1.5회 (1~3회)의 백혈구 성분채집술이 시행되어, 총 52회의 백혈구 성분채집술이 시행되었으며, 백혈구 성분채집술 채집산물 내의 CD34<sup>+</sup> 세포수는  $6.9 \times 10^6/\text{kg}$ 이었다. 이는 채집 전 말초혈액 CD34<sup>+</sup> 세포수와 통계적으로 유의한 상관관계가 있었다( $P < 0.0001$ ). 말초혈액 조혈모세포 채집산물에서 tyrosine hydroxylase mRNA RT-PCR을 시행한 33예에서 모두 음성 결과를 보였다. 고용량 항암 화학요법을 동반한 말초혈액 조혈모세포 이식술은 총 14명에서 24회 시행되었으며, 이식술시 투여된 CD34<sup>+</sup> 세포수는  $4.01 \times 10^6/\text{kg}$ , 백혈구와 혈소판의 생착 소요기간은 각각 12.0일, 21.5일이었다. 17명의 환자 중 11명이 사망하였으며, 6명이 생존하

여 평균 생존기간은 35.0개월, 5년 무사건 생존율이 14.6%였다.

**결론:** 본 연구는 단일 기관 연구로 자료의 한계가 있지만, 고위험군 신경모세포종의 치료방법으로 말초혈액 자가 조혈모세포 이식술을 동반한 고용량 화학요법의 효과가 기존의 연구결과와 비교하여 떨어진 것은 본 기관이 종합의료기관으로서 타 병원으로부터 원발 신경모세포종을 수술할 수 없어 전원된 예와 말초혈액 조혈모세포 채집 및 이식술을 시행하지 않는 병원으로부터 치료 중간에 전원된 예 등 생존율에 큰 영향을 주는 요인들이 갖은 환자가 많이 포함되었기 때문으로 판단하였다.

## 참고문헌

1. Maris JM, Hogarty MD, Bagatell R, Cohn SL. Neuroblastoma. Lancet 2007;369:2106-20
2. Matthay KK, Villablanca JG, Seeger RC, Stram DO, Harris RE, Ramsay NK, et al. Treatment of high-risk neuroblastoma with intensive chemotherapy, radiotherapy, autologous bone marrow transplantation, and 13-cis-retinoic acid. Children's Cancer Group. N Engl J Med 1999; 341:1165-73
3. Stram DO, Matthay KK, O'Leary M, Reynolds CP, Hasse GM, Atkinson JB, et al. Consolidation chemoradiotherapy and autologous bone marrow transplantation versus continued chemotherapy for metastatic neuroblastoma: a report of two concurrent Children's Cancer Group Studies. J Clin Oncol 1996;14: 2417-26
4. Ladenstein R, Philip T, Lasset C, Hartmann O, Garaventa A, Pinkerton R, et al. Multivariate analysis of risk factors in stage 4 neuroblastoma patients over the age of one year

- treated with megatherapy and stem-cell transplantation: a report from the European Bone Marrow Transplantation Solid Tumor Registry. *J Clin Oncol* 1998;16:953-65
5. Grupp SA, Cohn SL, Wall D, Reynolds CP; Hematopoietic Stem Cell Transplant Discipline and the Neuroblastoma Disease Committee, Children's Oncology Group. Collection, storage, and infusion of stem cells in children with high-risk neuroblastoma: saving for a rainy day. *Pediatr Blood Cancer* 2006;46:719-22
  6. Brodeur GM, Pritchard J, Berthold F, Carlsen NL, Castel V, Castelberry RP, et al. Revision of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. *J Clin Oncol* 1993;11:1466-77
  7. London WB, Castleberry RP, Matthay KK, Look AT, Seeger RC, Shimada H, et al. Evidence for an age cutoff greater than 365 days for neuroblastoma risk group stratification in the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2005;23:6459-65
  8. Cheung NK, Kushner BH, LaQuaglia M, Kramer K, Gollamudi S, Heller G, et al. N7: A novel multi-modality therapy of high risk neuroblastoma (NB) in children diagnosed over 1 year of age. *Med Pediatr Oncol* 2001;36:227-30
  9. Burchill SA, Kinsey SE, Picton S, Roberts P, Pinkerton CR, Selby P, et al. Minimal residual disease at the time of peripheral blood stem cell harvest in patients with advanced neuroblastoma. *Med Pediatr Oncol* 2001;36:213-9
  10. Cecyn KZ, Seber A, Ginani VC, Goncalves AV, Caram EM, Oguro T, et al. Large-volume leukapheresis for peripheral blood progenitor cell collection in low body weight pediatric patients: a single center experience. *Transfus Apher Sci* 2005;32:269-74
  11. Delgado J, Fernandez-Jimenez MC, Martinez A, Sastre A, Garcia-Miguel P, Hernandez-Navarro F, et al. Analysis of factors affecting PBPC collection in low-weight children with malignant disorders. *Cytotherapy* 2004;6:43-9
  12. Sohn SK, Kim JG, Chae YS, Kim DH, Lee NY, Suh JS, et al. Large-volume leukapheresis using femoral venous access for harvesting peripheral blood stem cells with the Fenwal CS 3000 plus from normal healthy donors: predictors of CD34+ cell yield and collection efficiency. *J Clin Apher* 2003;18:10-5
  13. Corrias MV, Haupt R, Carlini B, Parodi S, Rivabella L, Garaventa A, et al. Peripheral blood stem cell tumor cell contamination and survival of neuroblastoma patients. *Clin Cancer Res* 2006;12:5680-5
  14. Handgretinger R, Leung W, Ihm K, Lang P, Klingebiel T, Niethammer D. Tumour cell contamination of autologous stem cells grafts in high-risk neuroblastoma: the good news? *Br J Cancer* 2003;88:1874-7
  15. Lee S, Kim S, Kim H, Baek EJ, Jin H, Kim J, et al. Post-thaw viable CD34+ cell count is a valuable predictor of haematopoietic stem cell engraftment in autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Vox Sang* 2007; in press.
  16. Allan DS, Keeney M, Howson-Jan K, Popma J, Weir K, Bhatia M, et al. Number of viable CD34(+) cells reinfused predicts engraftment in autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002;29:967-72
  17. Henon PR, Liang H, Beck-Wirth G, Eisenmann JC, Lepers M, Wunder E, et al. Comparison of hematopoietic and immune recovery after autologous bone marrow or blood stem cell transplants. *Bone Marrow Transplant* 1992;9:285-91
  18. Feugier P, Bensoussan D, Girard F, Alla F, Schuhmacher A, Latger-Cannard V, et al. He-

- matologic recovery after autologous PBPC transplantation: importance of the number of postthaw CD34+ cells. *Transfusion* 2003;43: 878-84
19. Ryu KH, Ahn HS, Koo HH, Kook H, Kim MK, Kim HK, et al. Autologous stem cell transplantation for the treatment of neuroblastoma in Korea. *J Korean Med Sci* 2003;18:242-7
20. Klaassen RJ, Trebo MM, Koplewitz BZ, Weitzman SS, Calderwood S. High-risk neuroblastoma in Ontario: a report of experience from 1989 to 1995. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25:8-13
-