

## 소아 급성 림프구성 백혈병에서 염색체 이상의 추적검사 및 그 유용성

연세대학교 의과대학 소아과학교실

김양현 · 김정태 · 강정철 · 권해식 · 원성철\* · 오승환 · 유철주

### Follow-up Studies and Clinical Significance of Chromosomal Rearrangement in Childhood Acute Lymphocytic Leukemia

Yang Hyun Kim, M.D., Jung Tae Kim, M.D., Jung Chul Kang, M.D., Hae Sik Kwon, M.D.,  
Sung Chul Won, M.D., Seung Hwan Oh, M.D. and Chuhl Joo Lyu, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

**Purpose :** Through routine screening for chromosomal defects present in patients with acute lymphocytic leukemia(ALL) by means of reverse transcription-polymerase chain reaction(RT-PCR), we aimed for earlier detection of recurrences, hence evaluating the progress of the disease after treatment, and forecasting the need for further testing.

**Methods :** We analyzed 30 patients who visited the Pediatrics Department of Severance Hospital, from January 2002 to July 2003, in whom pre- and post-chemotherapy(post remission induction, post consolidateion and during maintenance) bone marrow samples were available. Among them, periodic RT-PCR examinations were performed in five *bcr/abl* positive cases, five *TEL/AML1* positive cases, and seven *dupMLL* positive cases to follow the changes in genetic markers.

**Results :** In patients with *bcr/abl*, all five cases reached complete remission in hematologic examination after induction chemotherapy, but *bcr/abl* RT-PCR was positive in one case after the treatment, with complete remission reached in just four patients. In the group with *TEL/AML1*, all five cases reached both hematologic and molecular complete remission after induction chemotherapy. In seven cases with *dupMLL*, hematologic complete remission was reached in all patients, except one patient who was six months old at diagnosis, who exhibited positive findings for abnormal precursor after induction chemotherapy.

**Conclusion :** Earlier detection of recurrence was possible through hematologic and chromosomal analysis of patients during follow-up. The most essential factor to detect recurrence considered the timing of bone marrow biopsy. So the procedure must be performed at critical intervals in a patient's course of treatment. In patients with ALL, recurrences by drug-resistant cells occur primarily after one year from the initiation of treatment, so we propose that bone marrow acquisitions to detect recurrences are recommended at one year after the start of treatment, and just before the discontinuation of treatment. (*Korean J Pediatr* 2004;47:861-867)

**Key Words :** Chromosomal analysis, Childhood acute lymphocytic leukemia, Reverse transcription-polymerase chain reaction, *bcr/abl*, *TEL/AML1*, *dupMLL*

### 서 론

소아 급성 림프구성 백혈병(acute lymphocytic leukemia, ALL)의 치료는 예후인자에 따라 위험 군을 나누고 그 위험정도에 따라 치료법의 강도를 달리하고 있다. Children's Cancer Group (CCG)의 예후인자에 따라 분류한 위험 군을 최근 분자 유전학적 정보를 포함시켜 만든 새로운 분류법이 Pui<sup>1)</sup>에 의해

\*현주소 : 국립암센터

접수 : 2004년 1월 12일, 승인 : 2004년 3월 8일

책임저자 : 유철주, 연세대학교 의과대학 소아과학교실

Correspondence : Chuhl Joo Lyu, M.D.

Tel : 02)361-5510 Fax : 02)393-9118

E-mail : cj@yumc.yonsei.ac.kr

주장되고 있다. 또한 역전사 중합효소 연쇄반응(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)을 이용한 분자 유전학적 정보는 세포 면역학적 방법에 비해 재발을 조기에 발견할 수 있다<sup>2)</sup>. ALL에서 나타나는 염색체이상 중 필라델피아 염색체는 예후 불량인자 중 하나로 9번과 22번 염색체의 전좌에 의해서 나타나는데 약 3-5% 가량 존재한다<sup>3)</sup>. *TEL-AML1* 전좌는 12p13에 위치한 *TEL* 유전자가 21q22에 존재하는 *AML1* 유전자와 융합된 염색체 전좌로서, 최근 ALL에서 빈번하게 관찰되는 것으로 알려졌다<sup>4)</sup>. t(12;21)(p13;q22)는 일반적인 염색체 검사방법으로는 발견하기가 용이하지 않기 때문에 그 동안 빈도가 매우 낮게 관찰되었으나, 분자 생물학적 기법을 이용하여 높은 빈도로 관찰됨이 밝혀졌다<sup>4)</sup>. *dupMLL*은 11번 염색체의 장완에 위치하는 *MLL* 유전자 부위 내에서 증폭되는 것으로 exon과 exon 사이의 절단점이 다양하며, 나쁜 예후 인자로 알려져 있다<sup>5)</sup>.

저자들은 ALL 환자에서 분자생물학적 암표지자로서 *bcr/abl*, *TEL/AML1*, *dupMLL* 유전자를 RT-PCR로 확인하여 환자의 위험군과의 관계 및 치료 중 이들 유전자의 음성 혹은 양성 상태와 혈액학적 상태를 비교하여 이들 유전자의 RT-PCR 검사의 적절한 검사시기 및 그 임상적 유용성에 대해 연구를 시행하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

2002년 1월부터 2003년 7월에 세브란스병원 소아과에 내원하여 ALL로 진단받은 환자 중 항암화학요법 전후의 골수검사를 시행하여, *bcr/abl*, *TEL/AML1*, *dupMLL*에 대한 RT-PCR 검사가 확인되었던 30명의 환아를 대상으로 하였다. 진단 당시의 연령은 0-14세(정중연령 5세), 총백혈구수는 680-65,790/ $\mu$ L(정중치 16,956/ $\mu$ L)이었고, 남자가 20명, 여자가 10명이었다. 진단 당시 나이가 1세 미만이거나 또는 10세 이상인 경우, 또는 총백혈구수가 50,000/ $\mu$ L 이상인 경우 고위험군으로 분류하였다(Table 1).

### 2. 방법

#### 1) 단핵세포 분리

환자의 골수에서 단핵세포를 ficoll-hypaque 비중 원심 법으로 분리하고, 연구에 바로 이용하였다.

#### 2) RNA 분리

RNA의 추출은 Ultraspec II RNA isolation system(Biotex Laboratories, Inc, Texas, USA)을 사용하였다. Ultraspec 용액 1 mL에 단핵세포를 넣고 혼합한 후 얼음에 5분간 담가 두었다. 0.2 mL chloroform을 넣고 잘 혼합하여 얼음에 10분간 방치한 후 12,000 rpm, 4°C 상태에서 20분간 원심분리 하였다. 상층을 회수하여 전체량의 0.5 부피에 해당하는 차가운 isopropanol을

넣고 RNA resin 0.05 부피를 다시 첨가한 후 섞어서 상층을 버리고 침사를 75% 에탄올에 2차례 세척한 후 건조하였다.

### 3) cDNA 및 nested PCR primer

유전자 재배열의 검사는 Pallisgaard 등<sup>6)</sup>이 사용하였던 시발체(primer)들의 조합을 사용하였다. cDNA 합성을 위해서는 유전자 재배열에 특이적인 cDNA 시발체(Bioneer, Cheongwon, Korea)를 이용하였다(Table 2). 검사의 예민도를 향상시키기 위해 nested PCR법을 이용하였고 사용된 시발체(Bioneer)는 Table 3과 같다. 각 반응마다 3개의 시발체가 있는 경우 한 쌍으로 있는 것은 각각은 10 pmol을 넣고 하나만 있는 시발체는 2

**Table 1.** Clinical and Laboratory Characteristics of Patients

No.	Sex/Age	WBC(cell/mm <sup>3</sup> )	FAB	Karyotypes
1	M/7	8,130	L1	Normal
2	M/7	37,860	L1	t(12;21)(p13;q22)
3	F/5	7,260	L1	t(9;22)(q34;q11.2)
4	F/4	680	L2	t(12;21)(p13;q22)
5*	F/0	11,150	L1	11q23
6	M/4	5,740	L2	Normal
7	F/4	13,980	L1	t(12;21)(p13;q22)
8	M/3	34,250	L1	Normal
9*	F/13	2,060	L2	11q23
10	M/5	25,930	L2	Normal
11*	F/0	25,930	L2	Normal
12	F/1	5,380	L1	11q23
13	M/8	1,140	L1	Normal
14	M/3	9,060	L1	Normal
15	M/6	3,370	L1	t(9;22)(q34;q11.2)
16*	M/5	57,550	L1	t(9;22)(q34;q11.2)
17	M/3	13,980	L1	Normal
18*	F/0	28,880	L1	11q23
19	F/9	3,900	L1	t(12;21)(p13;q22)
20	M/1	6,600	L1	Normal
21*	M/3	65,790	L1	11q23
22	M/3	13,950	L2	Normal
23*	M/14	19,400	L1	t(12;21)(p13;q22)
24	F/5	8,000	L1	Normal
25*	M/11	31,820	L1	t(9;22)(q34;q11.2)
26	M/2	7,260	L1	Normal
27	M/3	18,050	L2	11q23
28*	M/11	34,250	L1	t(9;22)(q34;q11.2)
29	M/6	3,370	L2	Normal
30	M/9	3,970	L1	11q23

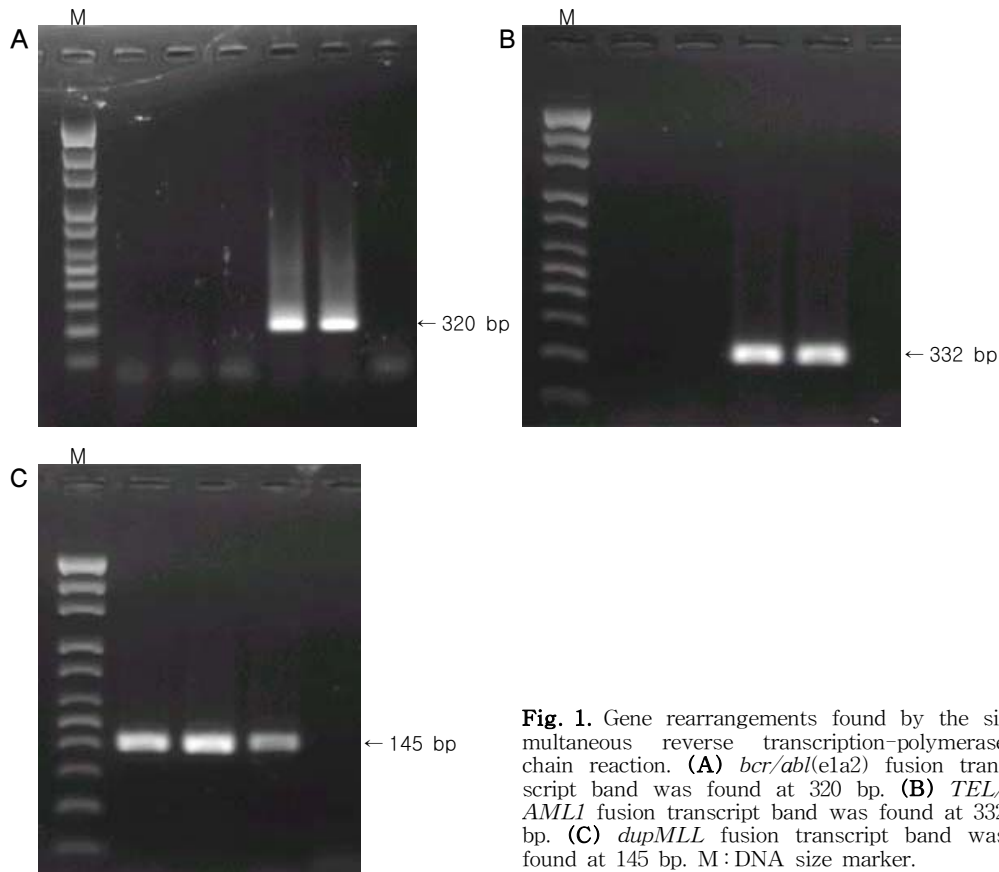
\*High risk group according to white blood cell count and age at diagnosis  
The patients and methods section for more details

**Table 2.** Gene Rearrangement Specific cDNA Primer

Gene rearrangement	Sequences 5' to 3'
<i>bcr/abl</i>	GCTGCCATTGAT
<i>dupMLL</i>	TTTGGTCTCTGAT
<i>TEL/AML1</i>	CGGTAGCATTTTC

**Table 3.** Primers Used in the Simultaneous Polymerase Chain Reaction(PCR)

Gene rearrangements	1st PCR primers	2nd PCR primers
<i>bcr/abl</i> of t(9;22)(q34;q11)		
<i>bcr</i> (22q11)		
1	CGCTCTCCCTCGCAGAACT	ACTGCCCGGTTGTCTGTGTC
2	GAGTCACTGCTGCTGCTTATGTC	CACGTTCTGATCTCCTCTGAC
<i>abl</i> (9q34)	TTTTGGTTTGGGCTTCACAC	ACACCATTCCCCATTGTGATTAT
<i>dupMLL</i> (11q23)		
<i>MLL</i> (upstram)		
1	CCGCCTCAGCCACTACTAC	GGACCGCCAAGAAAAGAAGT
2	AGCACTCTCTCCAATGGCAATAGT	AGCAGATGGAGTCCACAGGATCAG
<i>MLL</i> (downstream)	TTTTAGAGGGGAAAACACAGATGG	TCTAGGTCTCCCACGAGGTTTT
<i>TEL/AML1</i> of t(12;21)(q13;q22)		
<i>TEL</i> (12p13)	CACTCCCGTGGATTTCAAACAGTC	CTCATCGGGGAAGACCTGGCTTAC
<i>AML1</i> (21q22)	AGCCGAGTAGTTTTCATCATTC	AGCACGGAGCAGAGGAAGTTG



**Fig. 1.** Gene rearrangements found by the simultaneous reverse transcription-polymerase chain reaction. (A) *bcr/abl*(e1a2) fusion transcript band was found at 320 bp. (B) *TEL/AML1* fusion transcript band was found at 332 bp. (C) *dupMLL* fusion transcript band was found at 145 bp. M : DNA size marker.

배로 넣어 반응시켰다.

**4) 동시 RT-PCR**

cDNA 합성은 두 개의 시험관에 나누어 실시하였다. 추출한 RNA를 DEPC 처리된 증류수 40 µL에 완전히 녹이고 RNA 10 µL와 cDNA 시발체 중 *dupMLL*, *TEL/AML1*, *bcr/abl*, 그리고 내부 대조 시발체 10 pmol씩 다른 시험관에 넣어 잘 혼합한 후 65°C에서 5분간 반응 시켰다. 이후 역전사 효소 50 unit,

RNase inhibitor 20 unit, 2.5 mM dNTP 2.5 µL, 10X reaction buffer 2.5 µL, 0.1 M DTT 2.5 µL, 25 mM MgCl 3 µL을 첨가하여 총량이 25 µL 되게 하여 37°C에서 45분간 반응시켰다. 반응 후 증류수로 총량이 50 µL 되도록 2배 희석하였다.

**5) PCR 산물의 확인**

PCR 산물 8 µL을 ethidium bromide 0.5 µg/mL가 포함된 2% 아가로스 겔에서 100 V로 30분간 전기영동하였으며, 각각

320 bp, 332 bp, 그리고 145 bp에서 발견되는 *bcr/abl*, *TEL/AML1*, 그리고 *dupMLL*의 밴드를 육안으로 확인하였다(Fig. 1).

**6) 연속적인 골수검사에서의 염색체 양성 상태와 골수관해 상태의 비교**

초진시의 골수검사에서 *bcr/abl*, *TEL/AML1*, 및 *dupMLL* 유전자가 발견된 ALL 환자들 중 항암화학요법 치료 전 후 2회 이상 연속적인 골수채취가 가능했던 증례들의 각 골수검사 시점에서 RT-PCR 검사상 각각 유전자의 발현 유무와 혈액학적 상태를 비교하여 재발의 유무를 판단하였다.

**결 과**

1) 30명의 환자 중 *bcr/abl*이 양성인 경우는 5례이었고 모두 minor *bcr gene*을 보였으며, *TEL/AML1*이 양성인 경우는 5례이었고 그리고 *dupMLL*이 양성인 경우는 7례이었다.

2) *bcr/abl*, *TEL/AML1* 및 *dupMLL* 양성군과 CCG의 예후인자에 따른 위험군과의 상관관계를 교차분석( $X^2$ )한 결과 P 값이 각각 0.109, 0.593, 0.073으로 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Table 4).

3) *bcr/abl* 양성 ALL 환자의 경우, 전례에서 진단시 골수 검사상 양성으로 보였고, 환자 1, 3 및 5의 경우 관해도입 이후 양성으로 보인 적은 없었으나 환자 2는 관해도입 시작 후 4주에 시행한 추적 검사상 양성으로 보였으며 이후 공고요법 시작 후 5주에 시행한 추적검사상 전사체가 보이지 않았다. 환자 4의 경우 관해도입 이후에는 전사체가 보이지 않았으나 유지치료 시작

후 8주에 시행한 골수검사서 *bcr/abl* 전사체가 양성으로 보여 고용량의 항암 화학요법 후 골수이식을 시행, 이후 4주에 시행한 골수검사서 *bcr/abl* 전사체가 발견되지 않았다(Table 5).

4) *TEL/AML1* 양성 ALL 환자의 경우, 전례에서 진단시 골수 검사상 양성으로 보였고, 환자 1, 3 및 5의 경우 관해도입 시작 후 4주, 공고요법 시작 후 4주, 유지치료 시작 후 8주에 시행한 추적검사상 전사체가 보이지 않았다. 환자 2, 4의 경우 관해도입 시작 후 4주, 공고요법 시작 후 4주에 시행한 추적검사상 전사체가 보이지 않았고, 유지요법을 시행하고 있다(Table 6).

5) *dupMLL* 양성 ALL 환자의 경우, 전례에서 진단시 골수 검사상 양성으로 보였고, 환자 1, 3, 4, 5, 6 및 7의 경우 관해도입 이후 전사체가 양성으로 보인 적은 없었으나 환자 2(진단당시 생후 6개월인 환자)는 관해도입 시작 후 4주에 시행한 추적 검사상 전사체가 양성으로 보였다(Table 7).

**고 찰**

최근 백혈병과 특정 염색체나 암유전자와의 상호 관련성이 알려지기 시작하면서 특정 염색체나 암유전자에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 백혈병 중 염색체 이상을 나타내는 경우 환자의 추적관찰 중 염색체 이상을 확인함으로써 재발의 조기 진단이 가능한 것으로 알려져 있다. 급성 백혈병에서의 염색체 전사체 검색은 치료 후 질환의 경과를 평가하는데 사용될 뿐 아니라 추가적인 치료의 필요성과 임상적으로 확인한 재발이 오기 전에 재발을 예측할 수 있다는 점에서 임상적으로 중요하다<sup>7)</sup>. 그러나 일반적으로 시행하는 세포유전학 검사로는 감수성이 매우 낮아 재발의 조기 진단이 힘들다. 이에 따라 감수성이 비교적 예민한 RT-PCR의 분자 생물학적 방법이 이용되고 있다. 이는 급성 백혈병에 특이한 염색체 전좌 결합부위에 형성되는 결합유전자를 표지자로 사용하여 그 결합유전자에 대하여 선택적인 증폭을 시행하는 것이다<sup>8,9)</sup>.

인체의 9번 염색체에 정상적으로 존재하는 *abl* 유전자는 세포질내의 다른 단백질을 인산화 시키는 타이로신키나제 효소 기능을 지니고 있으며, 22번 염색체의 *bcr* 유전자와 결합하여 새로운 *bcr/abl* 융합 유전자를 생성하는 경우에는 그 인산화 기능이 향진되어 백혈병 발병의 원인이 된다<sup>5)</sup>. *bcr/abl* 전암 유전자(proto-oncogene)에서 210 kd(p210)의 융합단백질(fusion pro-

**Table 4.** Correlation of Risk Factors and Chromosome Abnormalities

		Risk factor		P-value
		High	Standard	
<i>bcr/abl</i>	Positive	3/30(33%)	2/30(10%)	0.109
	Negative	6/30(67%)	19/30(90%)	
<i>TEL/AML1</i>	Positive	1/30(11%)	4/30(19%)	0.593
	Negative	8/30(89%)	17/30(81%)	
<i>dupMLL</i>	Positive	4/30(44%)	3/30(14%)	0.073
	Negative	5/30(56%)	18/30(86%)	

**Table 5.** Serial Follow-up Results in the Patients with *bcr/abl*

Patient No	Dx*	Induction	Consolidation	Maintenance	Comments
1	+	-	-	-	CR <sup>†</sup> >1 yr
2	+	+	-	-	CR >1 yr
3	+	-	-	-	CR >1 yr
4	+	-	-	+ → -	AlloBMT <sup>‡</sup> after relapse
5	+	-	-	-	CR >3 yr

\*Dx : Diagnosis, †CR : Complete remission, ‡AlloBMT : allogeneic bone marrow transplantation  
See results for more detailed timing of the above studies

**Table 6.** Serial Follow-up Results in the Patients with *TEL/AML1*

Patient No	Dx*	Induction	Consolidation	Maintenance	CR†
1	+	-	-	-	>1 yr
2	+	-	-	-	>1 yr
3	+	-	-	-	>1 yr
4	+	-	-	-	>1 yr
5	+	-	-	-	>1 yr

\*Dx : Diagnosis, †CR : Complete remission  
See results for more detailed timing of the above studies

**Table 7.** Serial Follow-up Results in the Patients with *dupMLL*

Patient No	Dx*	Induction	Consolidation	Maintenance	CR†
1	+	-	-	-	>1 yr
2	+	+	-	-	>1 yr
3	+	-	-	-	>1 yr
4	+	-	-	-	>1 yr
5	+	-	-	-	>1 yr
6	+	-	-	-	>1 yr
7	+	-	-	-	>1 yr

\*Dx : Diagnosis, †CR : Complete remission  
See results for more detailed timing of the above studies

tein)이 형성된다. 또한 *abl* 유전자는 22번 염색체의 minor breakpoint cluster region으로도 전좌될 수도 있는데, 이 때는 ALL에만 나타나는 190 kd 크기의 융합단백질(p190)이 형성되고 필라델피아 염색체 양성 ALL의 90% 이상에서 이러한 형태로 전좌된 아형이 나타난다. *bcr/abl* 융합유전자는 ALL의 발생 및 완치여부에도 핵심적인 역할을 담당하고 있으며 화학요법으로는 이 유전자를 완전히 제거할 수 없고 조혈모세포이식 후 소실되었던 본 유전자가 다시 검출되는 경우에는 단기간 내에 거의 100% 재발하는 것으로 알려져 있다<sup>10-12)</sup>. 따라서 본 유전자는 화학요법 후 본 질환의 잠재적 재발가능성 및 조혈모세포이식 후의 재발에 관한 예측인자로서 가장 중요한 역할을 담당하고 있다<sup>13, 14)</sup>.

본 연구 대상 환자에서 연속적인 골수 검사로 *bcr/abl* 전사체에 대한 RT-PCR 검색에 따라 각 시기별 골수 관해상태와 임상소견을 비교 분석해 본 결과, 5례 모두에서 혈액학적으로는 완전관해 상태가 되었으나, 이 중 1례에서는 *bcr/abl* 전사체가 양성인 것을 보아 임상적 완전관해 상태에도 재발이 가능함을 알 수 있었다. *bcr/abl* 융합 단백을 표현하는 백혈병은 기존의 ALL에 대한 표준 치료법으로 현저히 불량한 예후를 보이나, 초진 시에 이러한 t(9:22)(q34:11)를 발견하여 강화된 항암 화학요법을 사용하면 장기 생존율을 향상시킬 수 있다<sup>20, 21)</sup>. 완전관해도입 후에 전사체가 발견되었던 1례의 경우, 강화된 항암 화학요법을 실시하고 고용량의 항암 화학요법후 형제간 골수이식을

시행하였고, 이후 혈액학적 소견으로 완전관해가 확인된 시기에 시행한 골수표본에서는 *bcr/abl* 전사체가 발견되지 않았다.

t(12:21)(p11;q22)는 12번 염색체에 단완에 있는 *TEL* 유전자와 21번 장완에 있는 *AML1* 유전자의 상호 전좌로 인해 *TEL/AML1* 융합 유전자가 발생하며, 대부분 세포유전학적으로는 검출할 수가 없고 RT-PCR의 분자생물학적 검사를 통해서만 진단할 수 있다<sup>4)</sup>. 소아 B 세포 계열의 ALL의 약 20%에서 나타나며 소아 ALL의 가장 흔한 유전자 재배열의 하나로서 좋은 예후 인자로 알려져 있으나 재발된 소아 ALL 환자에서의 *TEL/AML1* 유전자의 빈도는 보고자마다 차이가 있다<sup>4, 5, 15-17)</sup>. 본 연구대상 환자 중 *TEL/AML1* 양성 ALL 환자의 경우, 5례 모두에서 관해 도입 화학요법 후 혈액학적으로 완전관해가 되었으며, 이 시기의 골수검사에서도 5례 모두 *TEL/AML1* 전사체가 발견되지 않았다.

*dupMLL*은 나쁜 예후인자로 알려져 있어 진단 시 전사체가 확인될 경우 고위험군으로 분류되며 처음부터 강화된 항암화학 요법을 실시하게 되고, 골수이식을 준비하게 된다<sup>5, 18, 19)</sup>. *dupMLL*의 경우에서 초진시 염색체 검사 이상이 발견된 7례 모두는 고위험군으로 분류하여 강화된 치료법을 실시하였다. 생후 6개월에 진단된 1례의 경우에는 관해도입 화학요법 후에도 전사체가 발견되어 이 후 타인 골수이식을 계획하고 있다.

본 연구에서 기존의 CCG 위험군에 따른 위험군과 염색체 이상과의 상관관계는 통계적으로 큰 의미를 가지지는 못하였다 (Table 4). 이는 진단당시 고위험군에 속해있지 않은 환자의 경우에도 나쁜 예후 인자를 가지는 유전자를 가질 수 있음을 의미한다. 따라서 모든 환자에서 진단시 유전자 검사가 필수적으로 시행되어야 함을 알 수 있다.

소아 백혈병 치료에서의 관건은 추가적인 치료나 더 강화된 치료를 필요로 하는 환자 군을 알아내는 것이다. 염색체 전사체 검색을 함으로써 증식 가능한 암세포를 적당한 시기에 발견하여 완치를 위한 치료를 시도할 수 있다<sup>22-24)</sup>. 백혈병에서의 염색체 전사체 검색의 임상적 의의를 확인하는데 필요한 중요한 요인은 환자의 질병경과 중 골수검사가 필수적인 시기에 시행되어 골수 검체를 획득할 수 있어야 한다는 점이다<sup>25-27)</sup>. ALL의 경우 약제 내성세포가 발생하기 시작할 수 있는 관해도입 치료가 완료되었을 때, 치료 중 재발이 치료개시 1년 이후에 많이 발생하므로 치료 후 1년째, 그리고 치료 후 재발을 초래할 수 있는 증식성이 낮은 세포를 발견하기 위해 치료종료 직전 등의 시점에서는 염색체 전사체 검색을 위한 골수검체 획득이 필수적으로 시행되어야 할 것으로 사료된다<sup>28-30)</sup>.

**요 약**

**목적 :** 소아 급성 림프구성 백혈병 환자에서 나타난 염색체 검사 이상을 RT-PCR로 주기적으로 측정함으로써 재발의 유무를 파악하여 치료 후 질환의 경과를 평가하고 추가적인 치료의

필요성을 예측하고자 하였다.

**방법** : 2002년 1월부터 2003년 7월까지 세브란스병원 소아과에 내원하여 ALL로 진단받은 환자 중 항암화학요법 전후 골수검사를 시행하여 염색체 전좌에 대한 RT-PCR 검사가 가능하였던 환자 30명을 대상으로 하였다. 이 중 *bcr/abl* 양성 5례, *TEL/AML1* 양성 5례, *dupMLL* 양성 7례를 대상으로 주기적으로 RT-PCR로 염색체 검사 이상을 파악하였다.

**결과** : *bcr/abl*의 경우 5례 모두에서 관해 도입 화학요법 후 혈액학적으로는 완전관해가 되었으나 이 중 1례에서는 이 시기의 주기적 골수검사서 *bcr/abl* 전사체가 양성이었다. *TEL/AML1*의 경우 5례 모두에서 관해 도입 화학요법 후 혈액학적으로 완전관해가 되었으며 이시기의 골수검사에서도 5례 모두 *TEL/AML1* 전사체가 발현되지 않았다. *dupMLL*의 경우 7례 모두에서 관해 도입 화학요법 후 혈액학적으로는 완전관해가 되었으나 이 중 1례에서는 골수검사서 전사체 양성이었다.

**결론** : ALL 환자의 추적관찰 중 혈액학적 소견 및 염색체 이상을 확인함으로써 재발을 조기에 발견할 수 있다. ALL에서 재발을 조기에 발견하는데 필요한 중요한 요인은 환자의 질병경과 중 골수검사가 필수적인 시기에 시행되어 골수검체를 획득할 수 있어야 한다는 점이다. ALL의 경우 약제내성세포가 발생하기 시작할 수 있는 관해도입 치료가 완료되었을 때, 치료 중 재발이 치료개시 1년 이후에 많이 발생하므로 치료 후 1년째, 그리고 치료 후 재발을 초래할 수 있는 증식성이 낮은 세포를 발견하기 위해 치료종료 직전 등의 시점에서 염색체 전사체 검사가 시행되는 것이 필요하리라 사료된다.

## References

- Pui CH. Acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Clin North Am* 1997;44:831-46.
- Jeong IS, Yang CH, Park SM, Cho HS, Oh SH, Lyu CJ, et al. The prognostic significance of immunophenotype in children with acute lymphoblastic leukemia. *Korean J Pediatr Hematol Oncol* 1997;4:291-300.
- Schlieben S, Borkhardt A, Reinisch I, Ritterbach J, Janssen JW, Ratei R, et al. Incidence and clinical outcome of children with *bcr/abl*-positive acute lymphoblastic leukemia (ALL). A prospective RT-PCR study based on 673 patients enrolled in the German pediatric multicenter therapy trials ALL-BFM-90 and CoALL-05-92. *Leukemia* 1996;10:957-63.
- Liang DC, Chou TB, Chen JS, Shurtleff SA, Rubnitz JE, Downing JR, et al. High incidence of *TEL-AML1* fusion resulting from a cryptic t(12:21) in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia in Taiwan. *Leukemia* 1996;10:991-3.
- Bernard OA, Romana SP, Schichman SA, Mauchauffe M, Jonveaux P, Berger R. Partial duplication of *HRX* in acute leukemia with trisomy 11. *Leukemia* 1995;9:1487-90.
- Pallisgaard N, Hokland P, Riishoj DC, Pedersen B, Jorgensen P. Multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction for simultaneous screening of 29 translocations and chromosomal aberrations in acute leukemia. *Blood* 1998;92:574-88.
- Athale H, Shurtleff SA, Jenkins JJ, Poquette CA, Tan M, Downing JR, et al. Use of reverse transcriptase polymerase chain reaction for diagnosis and staging of alveolar rhabdomyosarcoma, Ewing sarcoma family of tumor, and desmoplastic small round cell tumor. *J Pediatr Hematol Oncol* 2001;23:99-104.
- Lee JH, Lee JH, Shin YR, Lee JS, Kim WK. Application of different prognostic scoring systems and comparison of the FAB and WHO classifications in Korean patients with myelodysplastic syndrom. *Leukemia* 2003;17:305-13.
- van Dongen JJ, Macintyre EA, Gabert JA, Delabesse E, Rossi V, Saglio G, et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberration in acute leukemia for detection of minimal residual disease. *Leukemia* 1999;13:1901-28.
- Pine SR, Moy FH, Wiemels JL, Gill RK, Levendoglu-Tugal D, Ozakaynak MF, et al. Real-Time quantitative PCR: standardized detection of minimal residual disease in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003;25:103-8.
- Lion T. Current recommendation for positive controls in RT-PCR assays. *Leukemia* 2001;15:1033-7.
- Tchirkov A, Bons JM, Chassagne J, Schoepfer C, Kanold J, Briancon G, et al. Molecular detection of a late-appearing *BCR-ABL* gene in a child with T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Ann Hematol* 1998;77:55-9.
- Schoch C, Schnittger S, Bursch S, Gerstner D, Hochhans A, Berger U, et al. Comparison of chromosome banding analysis, interphase- and hypermetaphase-FISH, qualitative and quantitative PCR for diagnosis and for follow-up chronic myeloid leukemia: a study on 350 case. *Leukemia* 2002;16:53-9.
- Sarriera JE, Alblitar M, Estrov Z, Gidel C, Aboul-Nasr R, Manshoury T, et al. Comparison of outcome in acute myelogenous leukemia patients with translocation(8:21) found by standard cytogenetic analysis and patients with *AML1/ETO* fusion transcript found only by PCR testing. *Leukemia* 2001;15:57-61.
- Burmeister T, Maurer J, Aivado M, Elmaagacli AH, Grunebach F, Held KR, et al. Quality assurance in RT-PCR-based *BCR/ABL* diagnostic-results of an interlaboratory test and a standardization approach. *Leukemia* 2000;12:1850-6.
- Savoldo B, Sammarelli G, Dotti G, Garau D, Regazzi E, Cilloui D, et al. Reverse transcription polymerase chain reaction is a reliable assay for detecting leukemic colonies generated by chronic myelogenous leukemia cells. *Leukemia* 1998;12:434-40.
- Preudhomme C, Henic N, Cazin B, Lai JL, Bertheas MF, Vanrumbeke M, et al. Good correlation between RT-PCR analysis and relapse in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 1997;11:294-8.
- Serrano J, Roman J, Jamesnez A, Castillejo JA, Navarro JA, Sanchez J, et al. Genetic, phenotypic and clinical features of acute lymphoblastic leukemias expressing myeloperoxidase mRNA detected by RT-PCR. *Leukemia* 1999;13:175-80.

- 19) Zhang QY, Garner K, Viswanatha DS. Rapid detection of leukemia-associated translocation fusion genes using a novel combined RT-PCR and flow cytometric method. *Leukemia* 2002;16:144-9.
- 20) Saffroy R, Lemoine A, Brezillon P, Frenoy N, Delmas B, Goldschmidt E, et al. Real-time quantitation of bcr-abl transcripts in haematological malignancies. *Eur J Haematol* 2000;65:258-66.
- 21) Lossos IS, Czerwinski DK, Wechsler MA, Levy R. Optimization of quantitative real-time RT-PCR parameters for the study of lymphoid malignancies. *Leukemia* 2003;17:789-95.
- 22) Nogva HK, Evensen SA, Madshon IH. One-tube multiplex RT-PCR of BCR-ABL transcripts in analysis of patients with chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukaemia. *Scand J Clin Lab Invest* 1998;58:647-54.
- 23) Wormann B. Implications of detection of minimal residual disease. *Curr Opin Oncol* 1993;5:3-12.
- 24) Potter MN, Cross NC, van Dongen JJ, Saglio G, Oakhill A, Bartram CR, et al. Molecular evidence of minimal residual disease after treatment for leukaemia and lymphoma: An updated meeting report and review. *Leukemia* 1993;7:1302-14.
- 25) Campana D, Pui CH. Detection of minimal residual disease in acute leukemia: Methodologic advances and clinical significance. *Blood* 1995;85:1416-34.
- 26) Mod A, Tamaska J, Adam E, Gidall J, Poros A, Kiraly A, et al. Importance of the detection of minimal residual disease in the management of acute leukemia. *Orv Hetil* 1991; 132:1291-6.
- 27) Kagan J, Finger LR, Besa E, Croce CM. Detection of minimal residual disease in leukemic patients with t(10;14)(q24;q11) chromosomal translocation. *Cancer Res* 1990;50:5240-4.
- 28) Uckun FM, Nachman JB, Sather HN, Sensel MG, Kraft P, Steinerz PG, et al. Clinical significance of Philadelphia chromosome positive pediatric acute lymphoblastic leukemia in the context of contemporary intensive therapies: A report from the Children's Cancer Group. *Cancer* 1998;83: 2030-9.
- 29) Harbott J, Ritterbach J, Ludwig WD, Bartram CR, Reiter A, Lampert F. Clinical significance of cytogenetic studies in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 1993;131: 123-32.
- 30) Brisco MJ, Condon J, Hughes E, Neoh SH, Sykes PJ, Se-shadri R, et al. Outcome prediction in childhood acute lymphoblastic leukaemia by molecular quantification of residual disease at the end of induction. *Cancer* 1994;343:196-200.