

급성 백혈병의 염색체 및 유전자 이상

인하대학교 의과대학 내과학교실

김 철 수

Chromosome and Gene Abnormalities of Acute Leukemias

Chul Soo Kim, M.D.

Department of Medicine, Inha University College of Medicine, Incheon, Korea

서 론

백혈병의 유전자 변이를 관찰하는 방법으로서의 염색체 검사는 1960대에 이르러 만성골수성 백혈병 환자의 백혈구에서 Philadelphia chromosome을 발견한 것이 효시라 할 수 있다. 이후 1970대에는 banding 기법이 개발되고 1980년대에는 염색체 band의 명명법이 세계적으로 통일되었다. 이와 더불어 분자유전학이 태동하고 암유전자가 발견됨에 따라 Philadelphia chromosome의 분자적 구조 및 그 유전자 산물의 역할이 규명되었다. 1970년대에서 1990년대에 걸쳐 급성 골수성 백혈병에 있어 세포 유전학적 특성, FAB 아형, 생물학적 특성간에 서로 연관성이 있음이 밝혀지고, 급성 림프성 백혈병에서도 세포 유전학적인 특성과 면역 표현형과의 연관성이 밝혀지게 되었다. 동시에 백혈병의 염색체 및 유전자 이상은 역학적인 의미도 지니게 되어, 선천성 백혈병, 항암제에의 노출과 연관된 백혈병, 종격동 내 생식세포암과 동반되는 백혈병 등에서 특징적인 염색체 이상이 동반됨이 알려지게 되었다. 최근에는 염색체의 이상을 좀더 정확히 규명하기 위해 FISH(fluorescence in situ hybridization) 기법이 개발되고, 유전자의 이상을 증명하기 위한 분자생물학적 기법이 등장함에 따라, 미량 또는 극미량의 이상도 검출할 수 있게 되었다.

지금까지 개발된 염색체 및 유전자 이상의 검색 방법은 첫째로 백혈병 아형의 정확한 진단, 둘째로 예후의 판정, 셋째로 치료 방침의 결정, 넷째로 미세잔존암의 검출에 도움을 주고 있다.

염색체 이상의 검사 기법

고전적인 염색체 검사를 위해서는 성장인자나 mitogen을 이용한 단기 세포 배양으로 세포를 metaphase에 두어야 한다. colchicine 또는 colcemid를 사용하여 세포를 metaphase에서 정지시킨 후 hypotonic solution으로 세포를 불리고, methanol과 acetic acid에 고정한 후, 도말을 얻는다. 가열하거나 protease를 사용하여 변성을 일으킨 후 Giemsa염료(G banding)나 atebriane염료(Q banding) 또는 acrifine orange(R banding)와 같은 형광염료를 사용하여 염색한다. 이 기법은 염색체의 숫자와 구조를 한 눈에 볼 수 있는 장점이 있으나 세포를 배양해야 한다는 것과 band 해상력의 한계가 있다는 단점이 있다.

FISH¹⁾는 분자적 세포유전학 검색 방법으로 표적 핵산염기 배열에 complementary sequence가 결합하는 원리를 이용한다. DNA probe에 fluorochrome 같은 형광물질을 부착하여 hybridization 유무를 판독하게 된다. 형광물질이 아니더라도 chemilluminescence, autoradiography, 효소의 반응 등을 통해서도 in situ hybridization 여부를 볼 수 있다. DNA probe의 종류에 따라 염색체 전부를 볼 수도 있고(chromosome painting), 특정한 염기배열의 single copy 또는 multi-copy를 볼 수도 있다. 장점으로는 기법이 간편하고 신속하다는 것, 세포배양 없이 interphase에서도 사용할 수 있다는 것, 해상력이 기존의 염색체 검사보다 높다는 것, 여러 가지 probe를 사용하여 한번의 검사로써 여러 가지 이상을 검색할 수 있다는 것, cytomorphology나 immunophenoty-

ping같은 다른 기법과 병용할 수 있다는 점 등이다.

특이한 염색체 이상의 DNA 염기배열이 알려진 백혈병의 아형에서는 이에 대한 probe를 사용하여 이를 증폭시키는 PCR(polymerase chain reaction) 기법을 구사하여 미세잔존암을 밝힐 수 있다. 세포 유전학 검사로서 정상세포 100 내지 1,000개의 정상세포 당 1개의 암세포를 발견할 수 있는 반면, PCR로써는 정상세포 100,000 내지 1,000,000개의 정상세포 당 1개의 암세포를 발견할 수 있는 해상력이 있다²⁾.

급성 골수성 백혈병에서의 염색체 이상

급성 골수성 백혈병과 동반되는 염색체의 이상은 백혈병의 병태생리에 새로운 조명을 주는 동시에 여러 가지 많은 아형으로 이루어진 동 질환의 새로운 분류 방법에 적용될 가능성을 보여주고 있다.

가장 많은 빈도를 보이는 염색체 이상은 염색체 수의 변화 또는 염색체 일부의 멸실이며 trisomy 8, trisomy 21, monosomy 5, 5q-, monosomy 7, 7q-, 9q-, 20q- 등을 예로 들 수 있다³⁾. 이 중 5번과 7번 염색체의 전체적 또는 부분적 멸실은 항암제 중 alkylating agent에의 노출과 연관된 2차성 백혈병의 80% 이상에서 발견되며 신생 백혈병의 16%에서도 발견된다. 또한 동일한 5번과 7번 염색체 이상은 petroleum, benzene, pesticide와 같은 물질과 연관된 백혈병에서도 보인다. 3번, 5번, 7번, 9번 염색체는 MDR(multi-drug resistance) 및 IL-3, IL-5, GM-CSF와 같은 조절성장인자나 수용체의 유전자를 함유하고 있어 흥미로우나 이러한 사실이 백혈병의 발암 기전과 어떤 연관을 가지고 있는지는 아직 명확히 밝혀지지 않고 있다.

급성 골수성 백혈병에서 빈발하는 특이 염색체의 상호 전위로서 t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13;q22), t(15;17)(q22;q21)을 대표적으로 들 수 있으며, 이미 1970년대부터 임상적 특성이 알려지기 시작하였다.

t(8;21)(q22;q22)은 급성 골수성 백혈병에서 가장 흔히 보이는 염색체 상호 전위로서 소아의 20% 및 성인의 10%에서 관찰된다. 대개 FAB 분류상 M2 아형에서 나타나며 좋은 예후 인자로 간주된다. 때때로 -Y, -X와 같은 성염색체의 멸실 또는 del(9)(q13q32)와 같은 추가적 염색체 이상을 보일 수 있으

며 이는 clonal progression으로 간주되고 있다.

inv(16)(p13;q22) 역시 흔히 보이는 염색체 상호 전위이며 FAB 분류상 M4 아형의 최소한 25%에서 볼 수 있다. 광학 현미경 검사상 비정상적인 호염 과립을 함유하고 PAS 염색에 양성반응을 보이는 호산구의 증식을 동반하기 때문에 FAB 분류에서 M4 "eo" 로 표기된다. 그러나 1/3의 환자에서는 호산구의 증식이 없을 수 있다. 이 염색체 이상 또한 좋은 예후 인자이다.

상기한 두가지 아형의 급성 골수성 백혈병은 공통적으로 DNA 전사의 초동 단계에 작용하는 CBF α 와 CBF β 라는 전사 활성 조절인자 단백질과 다른 단백질과의 융합단백을 표현하는데²⁾, t(8;21)(q22;q22)의 경우 8번 염색체 장완에 위치한 ETO 유전자와 21번 염색체 장완에 위치한 CBF α 유전자의 전위는 CBF α : ETO 융합 유전자를 만들며, inv(16)(p13;q22)의 경우 16번 염색체 장완에 위치한 CBF β 유전자와 16번 염색체 단완에 위치한 MyH11 염색체의 전위가 CBF β : MyH11 융합 유전자를 형성하여 각각 CBF α : ETO 및 CBF β : MyH11 융합단백을 생성한다. 정상적인 CBF α 단백질은 DNA의 TCTCT 결합부위에 직접 접촉하는 반면 CBF β 단백질은 CBF α 단백질에 결합하여 CBF α 단백질의 DNA 결합을 촉진한다. CBF α 단백질과 CBF β 단백질은 1:1로 결합하여 IL-3, GM-CSF, myeloperoxidase와 같은 myeloid specific gene의 전사를 촉진한다. CBF α :ETO 및 CBF β :MyH11 융합단백은 CBF α :CBF β 복합체에 의해 활성화되는 유전자를 억제하는 것으로 간주되나 정확한 기전은 아직 미상이다. 정상세포에서 MyH11이나 ETO 유전자가 발현되지 않는 점으로 미루어 CBF- α :ETO 및 CBF β :MyH11 융합단백은 암세포를 표적으로 하는 단백질 것으로 추측된다. 그러나 어떠한 기전으로 백혈병의 병태생리에 관여하는지 역시 미상이다. 상기한 두가지 아형의 급성 골수성 백혈병은 공통적으로 cytosine arabinoside에 매우 민감하게 반응하는데 그 이유 역시 미상이다.

t(15;17)(q22;q21)은 급성 전골수성 백혈병(FAB 분류상 M3)의 100%에서 보이는 염색체 상호 전위로서 15번 염색체 장완에 위치한 PML 유전자와 17번 염색체 장완에 위치한 retinoic acid receptor- α (RAR α) 유전자의 융합유전자 산물을 생산하게 된다

⁴⁾ PML-RAR α 융합 유전자 산물이 어떤 기전으로 백혈구의 암성 변화를 일으키는지는 아직도 명확히 밝혀지지 않고 있다. PML-RAR α 융합 유전자 산물은 apoptosis를 저지하는데 그 기전으로서 PML-RAR α 융합 유전자 산물이 함유하는 RAR α 수용체는 13-cis-retinoid에 잘 반응할 수 없어 세포의 분화를 유도하는데 실패하기 때문이라는 가설이 대두되고 있다²⁾. 동 질환에서 보이는 염색체 이상은 좋은 예후를 시사한다. 동 질환은 all-trans-retinoid에 높은 반응을 보이며 대량의 13-cis-retinoid에도 역시 반응을 보인다²⁾. 또한 anthracycline에 대해 매우 민감한 반응을 보이며 그 이유는 동 질환에서 P-glycoprotein의 발현이 거의 없기 때문이 아닌가 추측된다.

그외 빈도가 적은 염색체 상호 전위로서 t(9;11)(p22;q23)을 포함한 여러 가지 t(11q23), t(6;9)(p21;q34), inv(3)(q21;q26), t(1;22)(p13;q13) 등이 있으며 예후는 불량한 것으로 알려져 있다. 종격동에서 발생하는 생식선 외 생식세포암과 동반되는 백혈병 암세포에서는 생식세포암의 염색체 이상과 동일한 i(12p)의 이상이 나타나며 두가지 암이 모두 같은 세포에서 유래함을 보이고 있다⁵⁾.

급성 림프성 백혈병에서의 염색체 이상

급성 림프구성 백혈병의 예후 인자로서 연령, 백혈구수, 면역표현형 외에 karyotype도 중요함이 밝혀지고 있다. 세포유전학적인 동 질환의 분류는 염색체 배수에 의해 다섯 가지로 나뉘는데 이것은 과거의 좋지 않았던 banding 기법 때문이기는 하였지만 지금도 훌륭한 예후 지침으로 쓰일 수 있다³⁾.

첫째, 염색체의 숫자가 50개 이상인 high hyperploid class, 둘째, 염색체 숫자가 47에서 50까지의 low hyperploid class, 셋째, pseudodiploid class, 넷째, diploid class, 다섯째, hypodiploid class의 분류가 가능하며, 이중 첫째 class의 예후가 가장 좋고, 다음이 둘째 class이며, 셋째 class의 예후가 가장 나쁘다. 성인에서 발생하는 급성 림프성 백혈병에서는 첫째 class가 소아에서 30%를 점유하는 것과는 달리 15-20%에 불과하며 성인에서 발생하는 급성 림프성 백혈병의 절반 이상이 셋째 class에 해당된다.

소아 급성 림프성 백혈병의 5% 미만인 Philadel-

phia 염색체 양성 질환은 성인 급성 림프성 백혈병에서 25-30%에 이르며 매우 불량한 예후를 시사한다. B세포 백혈병인 t(8;14)(q24;q32), t(2;8)(p12;q24), t(8;22)(q24;q11)의 염색체 상호 전위는 8번 염색체 장완의 c-myc 원암 유전자 및 각기 14번 염색체 장완, 2번 염색체 단완, 22번 염색체 장완에 위치한 immunoglobulin 중쇄, kappa 경쇄, lambda 경쇄 유전자 간의 전위이며 예후가 매우 불량하다.

그 외 소아 백혈병에서 가장 흔한 염색체 상호전위로서 t(1;19)(q23;p13)을 보이는 pre-B 면역 표현형의 림프성 백혈병에서는 19번 염색체의 E2A 유전자와 1번 염색체의 PBX1 유전자가 융합된 유전자 산물인 E2A-PBX1 단백을 생산하며 pre-B 세포의 표적 유전자를 활성화시켜 암성 변화를 초래하는 것으로 생각된다. 이 아형에서는 백혈구 수가 높으며 예후가 불량하다. 또한 영아에서 흔히 보는 early pre-B 또는 biphenotype 면역 표현형의 t(4;11)(q21;q23) 유전자 전위도 매우 불량한 예후를 시사한다.

T 세포 급성 림프성 백혈병에서는 T 세포 수용체 유전자가 위치한 14번 장완(TCR- α , δ), 7번 장완(TCR- β), 7번 단완(TCR- γ)에서 다른 염색체의 유전자와 상호 전위를 보이는 수가 많으며 예후는 불량하다.

biphenotype 백혈병에서의 염색체 이상

11번 염색체의 q23 band에는 HRX 유전자가 존재하며 이를 포함하는 염색체 상호 전위는 급성 골수성 백혈병과 급성 림프성 백혈병 모두에서 흔하다. t(11q23)과 상응하는 전위 부위에 따라 림프성 백혈병의 빈도가 높은 전위도 있고 골수성 백혈병의 빈도가 높은 전위도 있으나, 공통적인 특징으로서 영아에서 발생하는 백혈병 중 가장 흔한 염색체 이상이며, 염색체 상호 전위로 발생하는 융합 유전자 산물은 골수구와 림프구 모두로 분화할 수 있는 전구세포 세포에 작용하며, 예후가 불량하다³⁾. HRX 유전자가 4번 염색체의 AF4 유전자와 상호 전위된 t(4;11)(q21;q23), 9번 염색체의 AF9 유전자와 상호 전위된 t(9;11)(p22;p23), 19번 염색체의 ENL 유전자와 상호 전위된 t(11;19)(q23;p13)를 예로 들 수 있으며 각각 융합 유전자 산물을 생산하는데 이들 염색체 전위 부위의

AF4, AF9, ENL 유전자는 흥미롭게도 모두 비슷한 염기 배열을 가지고 있다. alkylating agent로 인해 발생하는 백혈병이 5번과 7번 염색체 이상을 동반하는 것과는 대조적으로 DNA topoisomerase II inhibitor로 인해 발생하는 2차성 백혈병은 t(11q23)을 특징적으로 보이며³⁾, 전자의 잠복기가 5-7년으로서 골수이형성증 같은 전백혈병 단계를 거침에 반해, 후자는 잠복기가 6개월에서 5년 정도로 짧고 전백혈병 단계를 거치지 않는다.

급성 백혈병에서 염색체 및 유전자 이상의 임상적 의의

급성 백혈병의 염색체 및 유전자 검사는 질환의 정확한 진단 외에 임상 경과에 대한 예후를 제공할 수도 있어 백혈병의 아형을 나누는데도 기여할 수 있다. 약년기 백혈병과 노년기 백혈병의 치료에 대한 반응의 차이는 점차 염색체 및 유전자 이상으로 초래되는 생물학적 특성의 차이로 인식되고 있으며⁶⁾ 이는 앞으로 염색체 및 유전자 이상이 백혈병 분류의 새로운 기준으로 등장할 가능성을 보여준다.

염색체 또는 유전자 이상은 치료의 방침을 결정하는데도 도움을 준다. 예컨대 t(9;22)를 보이는 급성 림프성 백혈병은 예후가 매우 불량하여 1차 관해시 골수이식이 정당화된다.

치료에 대한 반응 및 경과를 관찰하는데 있어 염색체 및 유전자 검사는 좋은 방법으로 대두되고 있다. 기존의 염색체 이상에 새로운 염색체 이상이 추가로 발생한다면 백혈병의 clonal evolution 및 생물학적 특성의 변화로 간주될 수 있다. 만성 골수성 백혈병에서 Philadelphia chromosome의 정량이 치료에 대한 반응을 판정하는데 도움을 줄 수 있듯이, 전골수성 백혈병, M4 "eo", 골수이형성증 등과 같이 이상 염색체 또는 이상 유전자를 중앙 표식으로 쓸 수 있는 질환에서는 치료후 경과 관찰, 재발의 조기 발견, 미세 잔존암의 검출 등에 사용할 수 있다. 미세 잔존암의 검출

에 관한한 현재로서는 PCR을 이용한 분자생물학 기법이 가장 예민도가 높으며, 완전관해의 정의는 기존의 세포적 관해에서 분자적 관해로 옮겨가고 있다. 그러나 PCR로 검출되는 미세잔존암이 존재하더라도 반드시 재발로 이어지는 것은 아니어서 이에 대한 해석은 아직도 완전하지 않지만, PCR 음성에서 양성으로 전환되는 경우나 PCR 양성의 titer가 상승하는 경우는 대개 임상적인 재발로 이행된다고 볼 수 있다²⁾.

REFERENCES

- 1) Le Beau MM: *Fluorescence in situ hybridization in cancer diagnosis*. In DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Important advances in oncology*. JB Lipincott Co, Philadelphia, pp29-45, 1993
- 2) Khouri I, Sanchez FG, Deisseroth A: *Molecular biology of leukemias*. In DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Cancer, principles and practice of oncology*, 5th ed. Lippincott-Raven Co, Philadelphia, pp2285-2293, 1997
- 3) Hagemeijer A, Grosveld G: *Molecular cytogenetics of leukemia*. In Henderson ES, Lister TA, Greaves MF eds, *Leukemia* 6th ed. WB Saunders Co, Philadelphia, pp131-144, 1996
- 4) Warrel Jr RP, de The H, Wang ZY, Degos L: *Acute promyelocytic leukemia*. *N Engl J Med* 329:177-189, 1993
- 5) Ladanyi M, Samaniego F, Reuter VE et al: *Cytogenetic and immunohistochemical evidence of acute leukemias associated with mediastinal germ cell tumors*. *J Natl Cancer Inst* 82:221-227, 1990
- 6) Leith CP, Kopecky KJ, Godwin J et al: *Acute myeloid leukemia in the elderly, assessment of multidrug resistance(MDR1) and cytogenetics distinguishes biologic subgroups with remarkably distinct responses to standard chemotherapy*. A Southwest Oncology Group study. *Blood* 89: 3323-3329, 1997