

말초혈액으로부터 Clini-MACS[®]를 이용한 CD34 양성세포 분리의 안정성과 효율성

박성규^{1*}, 이남수¹, 원승호¹, 박희숙¹, 김원식², 박찬형², 김현수³, 김효철³, 김형준⁴, 홍영선⁵, 김춘추⁵, 홍대식¹
순천향의대 내과¹, 성균관의대 내과², 아주의대 내과³, 전남의대 내과⁴, 가톨릭의대 내과⁵

최근 자가조혈모세포이식 분야에서 말초혈액에서 채취된 단핵구 중 CD34⁺ 세포만을 선택적으로 분리하여 조혈모세포이식에 응용하고 있는데 일부 악성 림프종, 유방암 환자 등에서 종양세포의 오염 가능성을 감소시킬 목적으로 사용되어 치료성적 향상에 도움이 될 것으로 기대된다.

저자들은 고용량항암요법의 적응이 되는 악성 림프종, 유방암, 다발성 골수종 환자 20명을 대상으로 말초혈액으로부터 Clini-MACS[®]을 사용하여 선택적으로 분리한 CD34⁺ 세포만을 이용한 조혈모세포이식의 안정성과 효율성을 분석하고자 하였다. 분리방법의 효율성을 확인하기 위하여 CD34⁺ 세포 분리 전·후에 단핵구 수, CD34 양성률 및 세포수를 분석하고 CD34⁺ 세포의 획득률을 계산하였으며 조혈모세포이식 이후 골수기능의 회복 정도를 분석하여 안정성을 확인하였다.

결과는 분리 전의 CD34⁺ 세포수는 1.30×10^6 (0.30~29.0)이었으며 분리 후의 CD34⁺ 세포수는 0.93×10^6 (0.11~10.80)이었고 획득률은 70.5% (34.5~94.4%)이었다. 골수기능 회복에 대한 분석에서 호중구 $500/\mu\text{L}$ 이상으로 회복된 시기가 이식 후 12일째이었고 혈소판 수가 $20,000/\mu\text{L}$ 이상 유지된 시기가 15일째이었다. 4명의 환자에서 3주 내에 골수정착이 이루어지지 않아 추가적인 조혈모세포 투입이 이루어졌으며 그 이후 성공적인 정착이 이루어졌으며 특히, $2.0 \times 10^6/\text{kg}$ 이상의 CD34⁺ 세포를 확보한 경우에서 보다 빠른 백혈구 및 혈소판 회복을 보였다. 320일간 추적관찰을 통하여 9명이 생존 중이며 이중 1명이 재발하여 동종조혈모세포이식을 시행하였으며 사망한 6명 모두 재발 후 병의 진행으로 사망하였다. 전체 생존율은 56.9%이었으며 중양 생존기간은 417일이었으며 무병생존율은 50.9%이었다.

결론적으로 말초혈액 CD34⁺ 세포를 이용한 조혈모세포이식은 안정적으로 이루어질 수 있으며 특히 조기 골수기능회복을 위해서는 $2.0 \times 10^6/\text{kg}$ 이상의 CD34⁺ 세포를 확보하여야 할 것으로 생각된다. 또한, Clini-MACS[®]을 이용한 CD34⁺ 세포의 선택적 분리는 효과적으로 이루어졌으나 향후 광범위한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

자가조혈모세포 이식시 TRAIL을 이용한 암세포 제거에 관한 연구

순천향대학교 의과대학내과학교실, 임상분자생물학연구소

원승호, 이남수, 정희정, 김숙자, 이규택, 박성규, 백승호, 홍대식, 박희숙

목적 : TRAIL (tumor necrosis factor related-apoptosis-inducing ligand)은 type II transmembrane protein으로 처음에 FasL, TNF, Lymphotoxin- α 와 C-terminal extracellular domain의 유사성을 가지고 발견된 TNF cytokine family중의 하나이다. TRAIL은 사람이나 쥐의 다양한 변형세포와 암세포에 대한 강력한 아포토시스 유발인자이나 정상세포에는 비교적 독성이 없는 것으로 알려져 있다. TRAIL의 이러한 특징은 새로운 암 치료법으로 TRAIL의 임상적 적용의 가능성을 제시하였으나 최근 인간의 간세포에 대한 독성이 알려져 현재로는 전신적 투여가 불가능하다. 본 연구는 이러한 단점을 극복하고 암치료의 효과를 증대시키기 위한 방안으로 자가조혈모세포이식시 TRAIL이 채취한 골수내에 오염된 암세포를 체외에서 제거할 수 있는가를 평가하기 위하여 본 연구를 시행하였다. 방법 : 본 연구에서는 T 세포성 악성종양 세포주 중 TRAIL에 예민한 Jurkat 세포주 및 저항성이 강한 MOLT-4 세포주와 사람의 재대혈 단핵구를 이용하여 TRAIL 단독 또는 doxorubicin과 병용투여 하여 세포의 활성도 및 아포토시스 여부를 평가하였으며, TRAIL에 의한 Apoptosis 유도시 TRAIL 수용체의 발현 및 caspase 활성도의 변화를 관찰하였다. 성적 : Jurkat 세포주, MOLT-4 세포주 및 재대혈 단핵구를 TRAIL 200ng/ml의 농도에서 24시간 배양 후 시행한 MTT 분석상 세포 활성도는 재대혈 단핵구에서는 변화가 없는데 반하여 Jurkat 세포주에서는 $8.97 \pm 0.27\%$ 로 MOLT-4 세포주에서는 $57.40 \pm 4.66\%$ 로 감소하였다. MOLT-4 세포주와 재대혈 단핵구를 저용량 doxorubicin (0.1 μM) 단독 및 TRAIL 200ng/ml과 병용투여 하였을 때에는 재대혈 단핵구에서는 세포 활성도의 변화가 없는 반면에 MOLT-4의 경우에는 저용량 doxorubicin 투여시에는 세포 활성도가 $72.41 \pm 0.08\%$ 로 TRAIL과 병용투여 후에는 $38.33 \pm 0.01\%$ 로 TRAIL 단독 투여보다 세포 활성도가 감소함이 관찰되었다. TRAIL 단독 또는 doxorubicin과 병용투여시 재대혈모세포의 집락형성능을 평가하였을 때 집락수는 대조군과 비교하여 감소하지 않아 TRAIL 단독 또는 doxorubicin과 병용투여가 재대혈 조혈모세포의 집락 형성에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. TRAIL 투여 후 수용체의 변화는 Jurkat 세포주의 경우에는 시간이 지남에 따라 DR4의 발현 증가, FLIP 감소 및 caspase-3의 발현이 증가하였으나 재대혈 단핵구에서는 TRAIL 투여 전 후 모두 이들 수용체의 발현이 관찰되지 않았으나 MOLT-4의 경우에는 DR5 및 caspase의 증가가 관찰되었다. 결론 : 이상의 결과로 보아 재대혈 조혈모세포는 TRAIL 단독 또는 저용량 doxorubicin과 병용투여시 세포활성도와 집락형성능의 변화가 없는 반면에 T 세포성 악성종양 세포주에서는 현저한 세포사멸이 관찰되어 본 방법을 이용한 체외 암세포 제거술 개발의 가능성을 확인할 수 있었으며 향후 바이러스 벡터 등을 이용한 보다 선택적이고 효율성이 높은 방법의 개발이 필요할 것으로 생각된다.