

제대혈 채취에 있어서 채취량에 영향을 미치는 인자에 관한 임상적 고찰

관동대학교 의과대학 제일병원 산부인과학교실

이시원 · 양재혁 · 정진훈 · 조연경 · 김정환 · 홍달수 · 류현미 · 김문영

Factors Affecting the Volume of Umbilical Cord Blood

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., Hyun Mee Ryu, M.D., Moon Young Kim, M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, Cheil General Hospital & Women's Healthcare center,
Kwan Dong University School of Medicine, Seoul, Korea*

Objective: The purpose of this study was to find factors that may help increase the number of the hematopoietic stem cells collected from umbilical cord blood for transplantation.

Methods: We included 63 singletons born in our institute from August 2003 through February 2004. We conducted a prospective study to assess the effect of maternal, neonatal and placental factors on total volume of umbilical cord blood and the numbers of automatically and manually counted total nucleated cell (TNC) and mononuclear cell (MNC). The variables were maternal age and weight, parity, maternal antepartum hemoglobin, gestational age, labor induction, length of labor, route of delivery, sex and birthweight of the infant, cord clamping time, placental weight, length of the cord and the presence of nuchal cord. *p*-value of less than 0.05 was considered significant.

Results: As the volume of collected cord blood increased, the number of TNC and MNC also increased ($p < 0.001$). Placental weight was the only obstetric factor that significantly influenced the total volume of cord blood and the number of manually counted TNC and MNC. Other factors like, gestational age, parity, labor induction, route of delivery, sex of the infant, the presence of nuchal cord, placental weight, were not statistically associated with the volume of cord blood collected.

Conclusion: Our results suggest that the volume of umbilical cord blood collected for hematopoietic stem cell transplantation is mainly influenced by placenta weight, but not much by the other known factors.

Key words: Cord blood, Hematopoietic stem cell, Total nucleated cell, Mononuclear cell

서론

제대혈은 신생아가 태어났을 때 나오는 탯줄과 태반 내의 혈액으로 그 속에는 골수와 마찬가지로 혈액을 새롭게 만들어내는 조혈모세포 (hematopoietic stem cell) 뿐만 아니라 연골, 뼈, 근육, 신경 등을 만드는 간엽줄기 세포 (mesenchymal stem cell)들이 함유되어 있고 이 중 조혈

모세포는 자기 복제, 증식 및 분화의 기능을 가진 세포로 CD34+ 항원을 발현하는 것을 특징으로 하며 이를 조혈 모세포에 대한 표지자로 이용하고 있다.^{1,2} 제대혈에는 성인 골수에 상당하는 정도로 골수구와 적혈구계열의 전구세포가 존재하며, 조혈모세포는 제대혈에서 성인 골수에 비해 높은 농도로 존재할 뿐만 아니라, 증식, 자기 복제 및 분화능력이 더 뛰어나다고 알려져 있다.^{1,2} 제대혈 이식으로 치료가 가능한 질환들로는 백혈병 등의 다양한 종류의 암, 악성혈액질환,^{3,4,5} 선천성 대사장애, 면역 장애 질환 등이 있으며 난치성 류마티스 관절염,

접수일 : 2007. 2. 5.
주관책임자 : 양재혁
E-mail: jhy60408@yahoo.co.kr

전신성 홍반성 낭창 등^{6,7}에서도 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 동종골수 이식 시에는 이식과정상의 문제(마취 위험성, 여러 번의 골수채취로 인한 여러 합병증의 가능성 등)와 공여자 검색에서 이식까지 기간이 너무 오래 소요된다는 점, 높은 비용 등의 여러 가지 제한점들이 있지만, 제대혈은 신생아가 탄생하자마자 감염의 가능성이 없어, 그리고 아무런 통증이나 위험 없이 5분 안에 쉽게 채취될 수 있고, 공여자 검색이 빠르고, 체외증폭과 유전자 치료를 위한 줄기세포의 공급원이 될 수 있다는 이점이 있다. 그 외에도 제대혈속 림프구는 골수에 비해 미성숙하여 동종 이식 시 이식편대 숙주반응과 거부반응 등의 면역학적 합병증이 비혈연간 (unrelated-donor) 골수 이식에 비하여 현저하게 낮기 때문에 이식 성공률이 높고,⁸ 유전자형이 완전히 일치하지 않아도 이식이 가능하며, 골수 조혈모세포 이식에 비해 부작용이 적고, 경제적인 부담도 줄일 수 있다는 장점이 있다. 그러나 제대혈은 반드시 신생아가 태어날 때만 얻을 수 있으며, 분만 시 채취할 수 있는 제대혈의 양은 약 50~200 ml (평균 80~100 ml)로 채취 할 수 있는 혈액량이 한계가 있어 체중 40 kg 이하의 환자에만 적용할 수 있다 단점이 있다.⁹

제대혈 이식의 단점인 제한된 채취량을 극복하려는 노력은 현재 혼합이식이나 체외증폭과 같은 다양한 연구로 이어지고 있지만, 가장 기본적인 효율적인 제대혈 채취방법의 개발 또한 간과되어서는 안 될 부분이다. 최근에 발표된 여러 연구들에서는 분만 방법, 제대혈 채취방법, 제대의 길이, 태반의 무게, 태반의 분만과 채취까지의 간격 등이 제대혈 채취량의 증가와 연관이 있다는 보고가 있었는데¹⁸⁻²¹ 저자들은 그런 변수들을 객관적으로 평가하여 이전에 알려졌던 이런 변수들이 채취량을 증가시키는데 효과가 있는지를 확인해 보고, 추가적으로 채취량을 증가시킬 수 있는 변수들은 없는지 알아보려고 하였다.

연구대상 및 방법

2003년 8월부터 2004년 2월까지 6개월 동안 본원에서

산전진찰 받고 있던 18세 이상의 여성으로, 특별한 감염성, 선천성, 유전적 질환이 없고, 양막 파열이 24시간을 넘지 않으며, 고위험 임신이 아닌 산모를 대상으로 하였다. 자발적으로 공여은행이나 연구 목적을 위해 제대혈을 기증하는 산모 63명을 대상으로 출산 당시 제대혈 채취에 관해 산모 (혹은 보호자)에게 기증동의서를 작성하게 한 후 연구를 시행하였다. 임신부가 18세 이하이거나, 본 연구에 동의하지 않거나, 감염의 징후 (태반 감염, 태아 패혈증, 감염 표지자 양성, 배양검사 양성 등)를 보이거나, 임신부가 내과적 질환, 선천성 질환, 유전적 질환, 대사성 질환 등이 있는 경우, 태아의 선천성 기형이 의심되거나 예측 몸무게가 2,500 g 미만인 경우, 제대혈 채취량이 60 cc 미만으로 적거나, 제대혈 처리과정이 24시간 이상 지연되었던 경우에는 연구 대상에서 제외하였다.

제대혈 채취는 혈액백으로 채취하는 방법을 사용하였다. 혈액백으로 채취하는 방법은 태반이 나오기 전에 태반에서 가능한 한 먼 부위를 절찰하고 자른 후 베타딘으로 소독한 후, 혈액백 끝에 달린 16 G 주사침으로 제대정맥을 조심스럽게 천자하여, 혈액백을 산모보다 아래에 위치하도록 하여 제대혈이 중력에 의해 혈액백 (CB collect stemcare[®] NPBI international BV, Emmer-Compasum, Netherland)으로 자연스럽게 흘러 들어가도록 하여 가능한 2/3 이상이 차도록 채혈하였다. 채혈 도중과 채혈 후 혈액백을 충분히 흔들어 주어 항응고제 (Dextrose phosphate citrate)와 잘 섞이도록 하였다. 혈액백 속에 채집된 혈액의 양은 빈 혈액백과 채집된 혈액백의 질량 차이를 이용하여 계산하였다. 총유핵구수 (Total Nucleated cell (TNC) count) 및 총단핵구수 (mononuclear cell (MNC) count)는 자동혈액 분석기를 이용한 자동법과 현미경을 사용한 수기법으로 모두 측정하였다. 자동세포수 측정기를 이용한 세포 수 검사방법은 전혈 상태인 제대혈을 600 ul 정도 세포 수 검사용 튜브에 덜어낸 후 Beckmann사의 Coulter Ac Tdiff2를 사용하여 총 유핵세포수 (TNC) = WBC 농도 × 혈액량으로 계산하였고, 총 단핵세포수 (MNC) = TNC × (%Lympho+%Mono)로 계산하였다.

현미경을 사용한 수기법은 톨크 용액 950 ul에 전혈

50 ul를 혼합하여 1:20배로 희석 교반기로 균일하게 섞은 후, 10 ul를 취해 haemocytometer에 로딩하여 현미경으로 관찰하면서 세포수를 세었다. 이 때 (세포수 × 1/4 (또는 1/2, Haemocytometer의 4칸을 모두 세면 4, 2칸을 세면 2로 세포수를 나눈다) × 20 (희석배수) × 10⁴/ml × 혈액량)으로 TNC를 계산하고, TNC에 0.4를 곱하여 MNC를 계산하였다. 수치 0.4는 본원에서 수회의 감별 작업을 거친 후 얻은 데이터로써, 제대혈 전혈에 포함되어 있는 MNC의 평균적인 분포이다.

제대혈을 채취하면서 일반적인 정보들도 수집하였는데, 산모의 나이, 체중, 산과력, 출산 주수, 출산 전 산모 혈액소 수치, 유도분만 여부, 진통시간, 분만방법, 신생아 성별 및 출생 시 체중, 신생아 분만 후 제대 결찰까지의 시간, 태반무게, 제대 길이, 경부제대 (nuchal cord) 여부 등을 기록하였다.

제대혈의 총량과 TNC 수, MNC 수와 여러 변수들과의 연속적 상관관계는 spearman 상관분석을 이용하였고, 제대혈의 총량, TNC, MNC와 임신 주수, 분만 방법, 태반 무게, 신생아의 성별, 산과력, 유도분만 유무, 경부제대 (nuchal cord) 유무, 탯줄의 길이 등 비모수적 변수와의 관계는 Kruskal-Wallis test 및 Wilcoxon's test를 이용하여 비교하였다. 또한, 제대혈의 총량, TNC 및 MNC의 수에 영향을 미칠 수 있는 여러 인자들과의 인과관계는 중회 귀분석을 이용하여 분석하였다. 통계 분석 프로그램은 SPSS 11.0을 사용하였으며, *p*-value < 0.05인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 하였다.

결 과

연구대상 선정기준에 합당한 총 63명의 산모의 제대혈을

Table 1. General characteristics of maternal, neonatal and placental factors

Variables	Mean ±SD	Range
Mother's age (years)	31.7±3.5	25.0–41.0
Maternal weight (kg)	69.1±10.5	41.9–94.3
Gestational age (weeks)	40.2±2.0	38.7–42.2
Antepartum Hb (g/dL)	11.8±1.0	10.2–15.2
Length of labor (hour)	9.2±8.5	2.0–48.0
Neonatal weight (kg)	3.4±0.4	2.6–4.5
Cord clamping time (sec)	51.7±117.4	3.0–666.0
Placenta weight (g)	636.9±135.4	350.0–950.0
Length of cord (cm)	44.6±16.0	15.0–95.0

Table 2. Distribution of maternal, neonatal, and placental factors

Variables	Class	N	Percentage (%)
Number of previous live birth	0	35	55.3
	1	21	34.0
	2	7	10.6
Labor induction	Yes	31	49.0
	No	32	51.0
Route of delivery	C-section	17	27.5
	NSVD	46	72.5
Neonatal sex	Female	33	51.9
	Male	30	48.1
Nuchal cord	No	53	83.8
	Yes	10	16.2

Table 3. Correlation analysis of factors that are related to total volume of cord blood, total nucleated cell, and mononuclear cell

	TV of CB [†]		Pre-manual-TNC [†]		Pre-automatic-TNC [†]		Pre-manual-MNC [†]		Pre-automatic-MNC [†]	
	Correlation coefficient	P value	Correlation coefficient	P value	Correlation coefficient	P value	Correlation coefficient	P value	Correlation coefficient	P value
Age	-0.015	0.9113	0.099	0.5482	0.098	0.5601	0.103	0.5347	0.043	0.7959
Weight	0.080	0.6007	0.204	0.2468	0.181	0.3122	0.201	0.2544	0.163	0.3660
Gestational age	-0.143	0.3083	0.072	0.6654	0.064	0.7076	0.069	0.6822	-0.015	0.9308
Neonatal weight	<u>0.344</u>	<u>0.0126*</u>	<u>0.419</u>	<u>0.0089*</u>	<u>0.444</u>	<u>0.0059*</u>	<u>0.420</u>	<u>0.0087*</u>	<u>0.359</u>	<u>0.0292*</u>
Placental weight	<u>0.383</u>	<u>0.0021*</u>	<u>0.363</u>	<u>0.0169*</u>	<u>0.262</u>	<u>0.0935*</u>	<u>0.360</u>	<u>0.0179*</u>	<u>0.305</u>	<u>0.0492*</u>
Cord clamping time	-0.139	0.2825	0.010	0.9482	0.091	0.5681	0.011	0.9439	0.023	0.8834
Length of cord	0.128	0.3156	-0.090	0.5616	0.028	0.8597	-0.090	0.5642	0.162	0.2987
Length of labor	0.193	0.3164	-0.036	0.8742	-0.035	0.8813	-0.042	0.8524	-0.062	0.7909
Antepartum Hb	-0.009	0.9662	0.120	0.6131	0.107	0.6625	0.120	0.6131	0.259	0.2843

[†]TV of CB: total volume of cord blood, pre-manual-TNC: pre-count manual total nucleated cell, pre-automatic-TNC: pre-count automatic total nucleated cell, pre-manual-MNC: pre-count manual mononuclear cell, pre-automatic-MNC: pre-count automatic mononuclear cell

Table 4. Multivariate analysis of factors that are related to total volume of cord blood, total nucleated cell, and mononuclear cell

		TV of CB [†]			Pre-manual-TNC [†]		Pre-automatic-TNC [†]		Pre-manual-MNC [†]		Pre-automatic-MNC [†]	
		No.	Mean±SD	P value	Mean±SD	P value	Mean±SD	P value	Mean±SD	P value	Mean±SD	P value
Gestational age (weeks)	<37	10	89.5±14.8	0.5581	822.7±180.2	0.6363	832.7±213.1	0.5403	329.2±71.9	0.6442	408.7±160.4	0.8429
	37-41	19	88.1±25.2		844.6±467.6		911.8±455.7		337.9±187.1		486.5±295.8	
	>41	34	83.1±23.2		906.3±383.8		1024.4±447.0		352.5±157.5		475.3±229.1	
Parity	0	35	81.5±24.1	0.4066	849.4±436.1	0.6990	920.8±464.6	0.8159	339.6±174.4	0.6990	426.8±241.5	0.5761
	1	21	85.6±23.4		850.8±423.1		986.9±473.8		340.5±169.1		533.3±288.1	
	2	7	99.2±27.4		1008.2±464.3		1075.2±461.1		403.4±185.9		510.4±222.6	
Labor induction	Yes	31	91.9±23.6	0.1928	961.5±363.3	0.2887	1094.3±453.9	0.1849	384.6±145.4	0.2887	548.3±253.3	0.0757
	No	32	82.4±22.8		854.4±460.2		887.1±449.8		341.6±184.1		399.4±249.5	
Route of delivery	C-section	17	81.2±15.6	0.5280	681.9±250.9	0.1877	748.3±271.5	0.2750	272.4±100.4	0.1876	361.4±179.7	0.5468
	ND	46	88.1±26.3		897.7±412.5		972.0±465.6		359.1±165.0		460.6±274.2	
Neonatal Sex	Female	33	85.1±22.1	0.8374	914.9±411.1	0.6192	987.7±467.7	0.9515	366.0±164.5	0.6295	454.6±227.9	0.7728
	Male	30	86.1±25.4		848.8±433.2		975.6±438.5		339.5±173.3		505.9±280.2	
Nuchal cord	No	53	87.2±25.0	0.5006	834.2±427.9	0.9753	912.9±487.1	0.9486	333.6±171.2	0.9713	421.8±250.4	0.9230
	Yes	10	79.5±23.7		820.4±338.8		919.4±406.9		328.2±135.5		384.4±115.1	
Placental weight (g)	<550	22	78.5±17.1	<u>0.0003*</u>	731.8±287.9	<u>0.0473*</u>	831.4±313.8	0.1779	292.7±115.2	<u>0.0489*</u>	389.8±170.1	0.1612
	550-670	19	75.7±19.6		804.9±380.2		909.3±447.0		321.9±152.0		471.8±299.0	
	>670	22	101.2±22.1		1071.6±430.9		1140.6±469.7		428.7±172.3		553.1±242.7	
Length of cord (cm)	<35	15	84.9±28.0	0.4892		0.4910				0.4910		
	35-45	16	86.3±22.5									
	45-55	16	79.4±19.2									
	>55	16	91.9±20.5									

[†]TV of CB: total volume of cord blood, pre-manual-TNC: pre-count manual total nucleated cell, pre-automatic-TNC: pre-count automatic total nucleated cell, pre-manual-MNC: pre-count manual mononuclear cell, pre-automatic-MNC: pre-count automatic mononuclear cell

이시원 외 7인. 제대혈 채취에 있어서 채취량에 영향을 미치는 인자에 관한 임상적 고찰

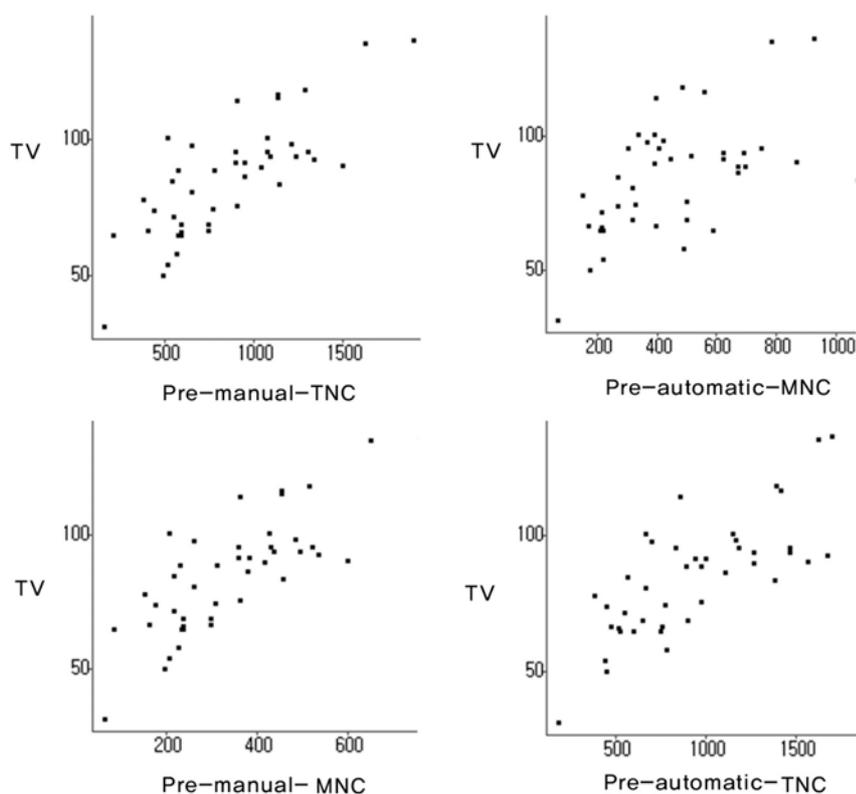


Fig. 1. Correlation between total volume of cord blood, total nucleated cells and mononuclear cells.

[†]TV: total volume of cord blood, pre-manual-TNC: pre-count manual total nucleated cell, pre-automatic-TNC: pre-count automatic total nucleated cell, pre-manual-MNC: pre-count manual mononuclear cell, pre-automatic-MNC: pre-count automatic mononuclear cell.

Table 5. Correlation between total volume of cord blood, total nucleated cells and mononuclear cells

	Pre-manual-TNC [†]	Pre-automatic-TNC [†]	Pre-manual-MNC [†]	Pre-automatic-MNC [†]
TV	0.80232	0.78581	0.80254	0.62379
<i>p</i> -value	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

[†]TV: total volume of cord blood, pre-manual-TNC: pre-count manual total nucleated cell, pre-automatic-TNC: pre-count automatic total nucleated cell, pre-manual-MNC: pre-count manual mononuclear cell, pre-automatic-MNC: pre-count automatic mononuclear cell

확보하였으며, 산모, 신생아, 태반, 제대, 그리고 일반적인 산과적인 특징들은 표 1과 2에서 기술하였다.

제대혈이 확보된 63명의 산모의 제대혈 양은 85.6±22.6 ml (평균±표준편차)로 측정되었으며 최대값은 150.0 ml 최소값은 31.0 ml였다. TNC의 경우 수기로 측정한 것은 875.3±392.5개/mm³, 자동혈액 분석기로 측정한 것은 961.1±424.0개/mm³이었으며, MNC의 경우에는 각각 350.1±157.0개/mm³과 469.7±241.4개/mm³로 측정되었다.

제대혈의 총량에 따른 TNC, MNC의 상관 관계를 본 결과는 표 5, 그림 1과 같이 제대혈의 용량이 증가함에 따라 자동, 수기 측정 여부와 상관없이 TNC와 MNC 모두 증가하는 것을 볼 수 있었으며, 이는 모두 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다 (*p*<0.01).

저자들은 제대혈의 총량, TNC 및 MNC에 영향을 줄 수 있는 인자들을 알아보기 위해 산모의 나이 및 몸무게, 임신 주수, 신생아 몸무게, 태반 무게, 제대결찰 시간,

탯줄의 길이, 진통시간, 산전 혈색소 등을 Spearman's correlation을 이용하여 상관관계를 비교 하였는데 신생아의 체중과 태반무게만이 유의한 상관 관계를 보였다 ($p < 0.05$) (표 3). 출산 주수, 유도분만 여부, 분만 방법, 신생아 성별, 경부 제대 (nuchal cord) 유무에 따른 제대혈의 총량, TNC, MNC 수는, 두 군간의 비모수적 검정방법인 Kruskal-Wallis test를 사용하여 비교하였는데 제대혈의 총량, TNC, MNC 모두에서 통계적으로 의미있는 차이를 보이지는 않았다. 과거 산과력 (생존 아이를 0, 1, 2명으로 구분) 및 태반무게를 세 군으로 나누어 각 군을 비모수적 검정 방법인 Wilcoxon test를 시행하였을 때 산과력에 대해서는 제대혈의 총량, TNC, MNC에서 통계적으로 차이가 없었으나, 태반 무게에 따라서는 제대혈의 총량, 수기로 측정한 TNC, MNC 만이 통계적으로 유의하게 차이가 있었다 (표 4).

마지막으로 제대혈의 총량, 수기로 측정한 TNC, MNC count과 표 1, 2에 있는 여러 인자들간의 인과관계를 분석하기 위해 중회귀 분석을 시행하였는데 제대혈의 총량을 이용하여 분석했을 때 통계학적으로 유의한 변수는 태반 무게밖에 없었으며, 회귀식은 제대혈의 총량 (ml) = $42.9 + 0.0682 \times$ 태반무게 (g)으로 표현되어, 이는 태반 무게가 100 g 증가할 때마다 제대혈의 총량은 6.82 cc가 증가하는 것을 의미하였다.

수기로 측정한 TNC와 MNC 수를 이용하여 분석했을 때 역시 의미 있는 변수는 태반무게 외에는 없었으며, 회귀식은 TNC (manual) = $184.2 + 1.11 \times$ 태반무게 (g), MNC (manual) = $73.6 + 0.44 \times$ 태반무게 (g)로 표현되었고, 이는 태반무게가 100 g 증가할 때마다 TNC는 111씩, MNC는 44씩 증가하는 것을 의미하였다.

고 찰

제대혈 조혈모세포 이식은 전통적인 골수이식을 대체할 수 있는 좋은 방법으로 현재 제대혈이식으로 치료가 가능한 질환을 살펴보면 골수이식의 적응증과 일치하는 악성종양 (급성,⁵ 만성 백혈병,³ 골수 이형성증후군,^{10,11} 다발성 골수종, 고형암 종류), 난치성 혈액질환 (재생

불량성 빈혈, Fanconi 빈혈,^{1,2} Kostmann 증후군, 겸상 적혈구성 빈혈, 지중해성 빈혈), 면역부전질환, 선천성 대사 장애, 자가면역장애 (류마티스성 관절염, 다발성 경화증 등)이며, 현재 줄기세포에서 분화가 가능한 것으로 밝혀진 세포로는 심근, 신경, 췌장, 간, 연골, 근육세포 등으로 이를 이용하면 심근경색증, 척추손상, 파킨슨 병, 알츠하이머 병, 당뇨병, 간질환, 퇴행성관절염, 근이양증 등이 치료가 가능하게 될 것이다. 동종이식을 위한 제대혈 은행의 이점으로는 쉽게 얻을 수 있다는 점, 공여자 검색이 빠른 점, 바이러스에 의한 감염에 안전하다는 점, 체외 증폭과 유전자 치료를 위한 줄기세포의 공급원이 될 수 있다는 점과 현대 모든 골수등록사업에서 소외 시 되는 소수인종과 민족에게 활용 가능한 공여군을 제공할 수 있다는 점 및 이식편대 숙주반응 (Graft-versus-host disease, GVHD)⁸이 적다는 점들이 있다. 하지만, 제대혈 은행의 단점으로 획득할 수 있는 제대혈의 양이 한정되어 있어, 세포 이식하는데 걸리는 시간도 오래 걸릴 뿐만 아니라, 실패율도 매우 높아, 40 kg가 넘는 큰 어린이나, 성인에서는 사용에 제한이 있다는 점이 있다.¹⁵ 제대혈 이식 시 가장 중요한 문제점은 제대혈 내에 평균 1.5×10^9 유핵 세포 만이 존재한다는 것이며, 이는 일반적인 성인의 골수 이식에서 쓰이는 세포의 1/10 수준이다. 이런 문제점이 성인에서의 조혈모세포의 공급원으로 제대혈이 널리 쓰이지 못하는 이유이다. 이식에 필요한 유핵 세포 수가 체중 1 kg당 2×10^7 이라고 가정한다면, 이는 10, 35, 50~70 kg의 환자에게 생착 시키기에 충분한 단핵구수의 각각 100%, 65%, 20%에 해당한다고 알려져 있다.¹⁴ 실질적으로 여러 제대혈 은행에서도 획득된 제대혈의 반수 이상이 전체용량 및 조혈모세포수의 부족으로 많이 버려지고 있는 상태이다.

최근에 이식 전 인간 제대혈 줄기/전구 세포의 체외 증폭은 성인환자에 대한 이식 후 성공적인 장기간 조혈 기능의 재건을 위한 제대혈 세포의 양과 질을 얻을 수 있다는 점에서 관심을 끌어왔으나, 안전성이 증명되지 않아 임상에 적용하기에는 제한점이 있고,^{15,16,17} 최근 여러 연구들에서는 조혈모세포를 최대한 많이 얻기 위해서는 제대혈의 총량을 더 많이 뽑는 것이 중요하다는 것을

인식하게 되어, 결국 제대혈의 양을 늘리기 위한 여러 산과적인 변수들이 연구되어져 왔다.

본 연구에서도 이미 알려진 대로 신생아의 체중 및 태반 무게가 증가함에 따라 제대혈의 총량 및 수기로 측정된 TNC, MNC의 수가 증가하는 양의 상관관계를 보였으나, 각 변수들의 상관 관계를 고려한 다중회귀분석에서는 태반무게만이 제대혈의 총량 및 수기로 측정된 TNC, MNC의 수를 좌우하는 변수로 분석되었다.

Jones 등¹⁸은 제대혈의 양은 분만방법, 분만유도 여부, 정부제대 유무, 신생아 체중, 다태아 유무, 태반 무게와 관련이 있음을 보고하고 있으며, 특히 인종뿐만 아니라 제대의 길이와 총 제대혈 양과의 관계에 대해 연구를 하여, 제대의 길이가 길수록 수집된 제대혈의 양이 증가하는 것을 관찰하였다. 저자들도 제대의 길이와의 연관성을 연구하였지만, 저자들의 결과는 이와는 다르게 태반 무게만이 제대혈의 양 및 TNC 수와 연관이 있는 것을 볼 수 있었다. 위의 연구는 연속형 변수 (태반무게, 신생아 체중 등) 마저도 범주화 처리를 하여 다중회귀분석에 모든 변수들이 범주형 변수로 사용되었는데, 본 연구에서도 태반무게, 출생 주수를 범주화해서 분석한다면, 신생아 체중과 분만 방법이 제대혈의 양에 영향을 주는 유의미한 인자로 분석될 수 있다. 또한 Jones 등의 연구에서는 다중 회귀 분석 시 제대혈 양이 70 ml를 넘게 하는 인자들을 분석하였다는 점이 우리 연구와 다른 점이며, 또한 여러 인종이 섞여 있어 이 또한 우리와 다른 결과를 보였을 것으로 생각된다.

Yamada 등¹⁹의 연구는 분만 방법에 따라 제대혈의 양과 CD34+ 세포의 수를 비교하였는데, 제왕절개 군에서 그 수가 많았음을 보고하고 있으나, 다른 변수들을 고려하지 않아 한계가 있는 것으로 생각되며, Nakagawa²¹ 등의 연구에서는 제대혈 양을 좌우하는 변수로 제대 길이, 태반무게, 신생아 체중을 TNC의 수를 좌우하는 변수로 성별, 신생아 주수를, CD34+ 세포의 수를 좌우하는 변수를 산모의 나이, 신생아 체중, 신생아 주수 등으로 뽑아, 제대혈의 양, 유핵세포수, CD34+ 세포의 수를 좌우하는 변수에 차이가 있음을 지적하고 있으나, 이 연구에서 제시한 제대혈의 양과 유핵 세포의 상관 관계를

제시한 부분에서 본 연구에 비해 상관관계가 다소 약한 것으로 보여 세 종속변수를 설명하는 독립 변수들 사이에 차이가 있을 것으로 생각된다.

본 연구가 다른 연구와 다른 점은, 수기로 측정된 것과 자동 혈액 분석기로 측정된 TNC, MNC의 수를 모두 제시하고 있다는 점이다. 대부분의 연구에서는 수기로 측정하던지, flowcytometry 기능을 가져 유핵 적혈구를 구분해 낼 수 있는 고가의 자동 혈액 분석기를 사용한 자료 중 하나를 제시하는 데 반해, 우리가 사용했던 사용했던 coulter AcTdiff2라는 장비는 보급형으로 널리 쓰이는 장비로 실제로 유핵 적혈구를 판별하지 못하여 유핵 적혈구도 백혈구로 판별하게 된다. 따라서 유핵 적혈구 수를 수기로 추정해서 기계로 측정된 전체 백혈구 수에서 빼면 진정한 백혈구 수를 구할 수 있다. 그럼에도 불구하고 이 장비를 사용한 이유는 수기로 측정된 데이터가 어느 정도 범위를 벗어나지는 않는지 확인 할 수 있으며, 이 장비로 측정된 데이터를 종속변수로 사용했을 때에도 통계적으로 유의미한 데이터가 나오는지 확인하기 위함이었다. 역시 예상대로 수기로 측정된 TNC, MNC 수는 태반무게, 신생아 체중과 상관 관계가 있었지만, coulter AcTdiff2로 측정된 수는 상관관계가 있는 변수가 없었다. 그것은 아마도 태아의 유핵 적혈구가 여러 가지 다양한 상황²⁰에서 증가 또는 감소하여 본 연구에서 측정된 유핵세포수에 영향을 주었을 것으로 생각되며, 이로 볼 때 앞으로 이와 관련된 연구를 진행 시 자동 혈액 분석기의 기종을 밝히고 이와 관련된 언급이 필요할 것으로 생각된다. 실제로 최근 국내에서 발표된 강 등²²의 연구에서도 제대혈의 양을 좌우하는 변수는 신생아 주수, 체중, 태반 무게, 산과 이력, 태아수, 산모의 당뇨 유무 등이었으며, 유핵세포수를 좌우하는 변수는 이와 대동소이 하였으나, 당뇨가 있는 산모가 연구에 배제되지 않았다는 점에서 본 연구와 차이가 있으며, 유핵구 수를 계산한 자동 혈액분석기의 기종이 언급되지 않아, 유핵 적혈구를 구분할 수 있는 기기인지를 확인 할 수가 없었다.

마지막으로 본 연구의 한계점으로 대상군이 63명밖에 되지 않아 연구결과를 확인하기 위해서는 더 큰 규모의

전향적인 연구가 필요할 것으로 생각되며, 향후 임상에 적용하기 위하여 총 유효구수, CD34+ 세포수 뿐만 아니라 좀 더 분화된 단계인 CFU-GM 등의 수까지도 측정이 필요할 것으로 사료된다. 결국 CD34+ 수가 중요한 것이며 어느 용도로 쓰이느냐에 따라 더 분화된 단계의 세포 측정을 한 후 이 수를 좌우하는 인자들을 찾아내는 것이 필요할 것이다. 또한 앞서 언급했듯이 인종간에도 차이가 있는 것으로 보여 한국인을 대상으로 한 대규모 연구가 더욱 필요할 것으로 사료되는 바이다.

참고문헌

1. Broxmeyer HE, Gluckman E, Auerbach A, Douglas, GW, Friedman H, Cooper S, et al. Human umbilical cord blood: a clinically useful source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Int. J. Cell Cloning* 1990; 8 Suppl 1: 76-89.
2. Broxmeyer HE, Kurtzberg J, Gluckman E, Auerbach AD, Douglas G, Cooper S, et al. Umbilical cord blood hematopoietic stem and repopulating cells in human clinical transplantation. *Blood Cells* 1991; 17: 313-29.
3. Laughlin MJ, Rizzieri DA, Smith CA, Moore JO, Lilly S, McGaughey D, et al. Hematologic engraftment and reconstitution of immune function post unrelated placental cord blood transplant in an adult with acute lymphocytic leukemia. *Leuk. Res.* 1998; 22: 215-9.
4. 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.
5. Rocha V, Cornish J, Sievers EL, Filipovich A, Locatelli F, Peters C, et al. Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. *Blood* 2001; 97: 2962-71.
6. Bhattacharya N. Placental umbilical cord whole blood transfusion to combat anemia in the background of advanced rheumatoid arthritis and emaciation and its potential role as immunoadjuvant therapy. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 2006; 33: 28-33.
7. Alaez C, Loyola M, Murguia A, Flores H, Rodriguez A, Ovilla R, et al. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT): an approach to autoimmunity. *Autoimmun. Rev.* 2006; 5: 167-79.
8. Rocha V, Wagner JE. Jr, Sobocinski KA, Klein JP, Zhang MJ, Horowitz MM, et al. Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant Registry Working Committee on Alternative Donor and Stem Cell Sources. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 1846-54.
9. Sanz GF, Saavedra S, Planelles D, Senent L, Cervera J, Barragan E, et al. Standardized, unrelated donor cord blood transplantation in adults with hematologic malignancies. *Blood* 2001; 98: 2332-8.
10. Ooi J. The efficacy of unrelated cord blood transplantation for adult myelodysplastic syndrome. *Leuk. Lymphoma* 2006; 47: 599-602.
11. Ooi J, Iseki T, Takahashi S, Tomonari A, Ishii K, Takasugi K, et al. Unrelated cord blood transplantation for adult patients with advanced myelodysplastic syndrome. *Blood* 2003; 101: 4711-3.
12. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic 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.
13. Gluckman E. Current status of umbilical cord blood hematopoietic stem cell transplantation. *Exp. Hematol.* 2000; 28: 1197-205.
14. Sanz GF, Saavedra S, Planelles D, Senent L, Cervera J, Barragan E, et al. Standardized, unrelated donor cord blood transplantation in adults with hematologic malignancies. *Blood* 2001; 98: 2332-8.
15. De Felice L, Di Pucchio T, Breccia M, Agostini F, Mascolo MG, Guglielmi C, et al. Flt3L enhances the early stem cell compartment after ex vivo amplification of umbilical cord blood CD34+ cells. *Bone Marrow Transplant.* 1998; 22 Suppl 1: S66-7.
16. Forte L, Migliaccio G, Sanchez M, Migliaccio AR, Passarelli A M, and Amadori S. Effects of cell banking manipulations on ex vivo amplification of umbilical cord blood. *Ann. Ist. Super. Sanita* 2000; 36: 333-42.
17. Kim HS, Lim JB, Min YH, Lee ST, Lyu CJ, Kim ES, et al. Ex vivo expansion of human umbilical cord blood CD34+ cells in a collagen bead-containing 3-dimensional culture system. *Int. J. Hematol.* 2003; 78: 126-32.
18. Jones J, Stevens CE, Rubinstein P, Robertazzi RR, Kerr A, and Cabbad MF. Obstetric predictors of placental/umbilical cord blood volume for transplantation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2003; 188: 503-9.
19. Yamada T, Okamoto Y, Kasamatsu H, Horie Y, Yamashita N, and Matsumoto K. Factors affecting the volume of umbilical cord blood collections. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2000; 79: 830-3.
20. Hermansen MC. Nucleated red blood cells in the fetus and newborn. *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal Ed* 2001; 84: F211-5.
21. Nakagawa R, Watanabe T, Kawano Y, et al. Analysis of maternal and neonatal factors that influence the nucleated and CD34+cell yield for cord blood banking. *Transfusion* 2004; 44: 262-7.
22. 강석호, 곽인평, 이숙환, 김수희, 이경주, 백진영 등. 분만 후 조혈 줄기세포 이식을 위한 제대혈 채취량에 미치는 여러 인자에 관한 임상적 고찰. *대한산부학회지.* 2006; 49(1): 76-83.

「국문초록」

목적: 조혈모세포 이식을 위한 제대혈 채취에 있어 제대혈의 채취량에 영향을 줄 수 있는 산과적 인자들에 대하여 알아보고자하였다.

연구방법: 2003년 8월부터 2004년 2월 사이 본원 산부인과에서 산전진찰을 받아오던 단태 임신 임신부 중 연구 포함 기준을 만족하는 63명을 연구 대상으로 하여 전향적인 연구를 시행하였다. 연구 대상군의 분만 시 나이 및 체중, 산과력, 출산 주수, 출산 전 산모 혈색소 수치, 유도분만 여부, 진통시간, 분만 방법, 신생아 성별 및 출생 시 체중, 신생아 분만 후 제대 결찰까지의 시간, 태반무게, 제대길이, 경부제대 (nuchal cord) 유무 등을 기록하여 제대혈의 총량 그리고 제대혈 이식 시 생착률에 영향을 주는 것으로 알려진 총유핵세포수 (TNC) 및 단핵세포수 (MNC)를 자동 및 수기로 측정하여 분석하였다.

결과: 채취된 제대혈 양이 증가함에 따라 TNC 및 MNC의 수도 증가 하였다 ($p < 0.001$). 제대혈의 총량, TNC, MNC와 여러 인자들과의 상관관계를 분석해 보았을 때 태반 무게가 증가함에 따라 제대혈의 총량, 수기로 측정한 TNC, MNC는 통계적으로 유의하게 차이가 있음을 볼 수 있었지만, 산모의 나이 및 체중, 산과력, 산모의 출산 전 혈색소 수치, 유도분만 여부, 진통시간, 분만 방법, 분만 주수, 분만 방법, 신생아 성별 및 출생 시 체중, 신생아 분만 후 제대 결찰까지의 시간, 제대 길이 등은 제대혈 채취량 및 TNC, MNC와 통계학적으로 의미 있는 상관관계를 보이지는 않았다.

결론: 제대혈 채취량은 태반 무게가 증가함에 따라 증가하였지만, 이 전에 알려졌던 그 외의 다른 산과적 인자들은 제대혈 채취량과 연관성이 없었다.

중심단어: 제대혈, 조혈모세포, 총유핵세포, 단핵세포
