

저강도 전처치 동종조혈모세포 이식 후 재발 예측을 위한 정량적 키메리즘 분석의 유용성

가톨릭대학교 의과대학 가톨릭조혈모세포이식센터

김유진 · 김동욱 · 엄기성 · 장필상 · 황지연 · 김수현 · 민창기 · 김희제 · 이종욱 · 민우성 · 김춘추

Usefulness of Quantitative Chimeric Assay for the Prediction of Relapse after Allogeneic Stem Cell Transplantation Receiving Reduced-intensity Conditioning

Yoo-Jin Kim, M.D., Dong-Wook Kim, M.D., Ki-Seong Eom, M.D., Pil-Sang Jang, M.D., Ji-Yeon Hwang, Su-Hyun Kim, Chang-Ki Min, M.D., Hee-Je Kim, M.D., Jong-Wook Lee, M.D., Woo-Sung Min, M.D. and Chun-Choo Kim, M.D.

Catholic Hematopoietic Stem Cell Transplantation Center, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Background: Reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) has been designed to minimize transplant-related toxicity after allogeneic transplantation, but its beneficial effects can be offset by increased relapse rate. Considering the need for early detection of relapse, we sought to determine whether quantitative chimeric assay can predict relapse after RIST.

Methods: We analyzed 33 patients receiving RIST from HLA-matched sibling. Their diseases were chronic myeloid leukemia (n=18), acute leukemias (n=7), myelodysplastic syndrome (n=5), chronic lymphocytic leukemia (n=2), and multiple myeloma (n=1). Chimerism analysis was performed with a multiplex short tandem repeat using unfractionated peripheral blood cells at the time of engraftment and 3-monthly intervals thereafter. Real-time quantitative PCR for BCR-ABL transcripts was also performed in chronic myeloid leukemia patients.

Results: Primary engraftment was successfully achieved

in all patients. During median follow-up of 13.2 months (range, 1.9~26.5 months), relapse was observed in 9 patients. Donor chimerism was a median of 81.8%, 58.2%, and 49.2% at 21 days, 3 months, and 6 months in relapsed patients, meanwhile it was 85.0%, 91.6%, and 97.3% in patients without relapse. Differences between two groups at 3 and 6 months were statistically significant. Significant correlation between donor chimeric percentages and normalized BCR-ABL transcript was observed ($r=-0.6$, $P=0.0001$).

Conclusion: This study suggests that serial monitoring of donor chimeric status after RIST may be useful to predict relapse and can be used to guide early intervention such as immune-modulation to prevent disease progression. (*Korean J Hemato Stem Cell Trans* 2004;9:94-100)

Key Words: Reduced-intensity stem cell transplantation, Chimerism, Relapse, Minimal residual disease

서 론

고용량의 항암제와 방사선을 이용한 표준 동종 조혈모세포이식은 여러 혈액 질환의 완치를 위한 효과적인 치료법으로 실시되고 있다.¹⁻³⁾ 그러나 전처치의 독성과 높은 이식편대숙주병(graft-versus-host disease, 이하 GVHD)으로 인해 고령의 환자나 심각한 감염증, 주요 장기의 손상이 동반된

환자에게는 시행할 수 없다.^{4,5)} 반면 면역억제를 근간으로 하는 저강도 전처치 조혈모세포이식(reduced-intensity stem cell transplantation, RIST)은 항암약제나 방사선 치료에 따르는 초기 독성을 감소시키고 동종 면역반응에 따른 이식편대 백혈병(graft-versus-leukemia, GVL)효과를 통한⁷⁻⁹⁾ 재발억제를 통해 기존에 조혈모세포이식의 혜택을 받을 수 없던 환자에게까지 확대, 실시되고 있다.

초기 이식관련 합병증이 적은 장점에도 불구하고 RIST를 받은 상당수의 환자가 생착부전을 경험하며 생착이 유도된 많은 수의 환자에서 혼합 키메리즘이 관찰된다. 지속적인 혼합 키메리즘은 지연성 거부반응이나 재발의 위험성이 높은 것으로 알려져 있는 반면,¹⁰⁻¹²⁾ 조혈모세포의 안정적인 생착은 생존을 향상뿐만 아니라 재발방지를 위한 GVL 효과를 위해 필수적인 요소이며, 이를 위해 완전 공여자 키메

책임저자 : 김동욱, 서울시 영등포구 여의도동 62
☎ 150-713, 가톨릭대학교 성모병원 내과학교실
Tel: 02-3779-1001, Fax: 02-780-3132
E-mail: dwkim@catholic.ac.kr
이 논문은 2003년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2003-003-E00092).

Table 1. Characteristics of enrolled patients

Variables	No
No of patients	33
Age (y, range)	42 (28~60)
Sex (M/F)	23/10
Diagnosis	
Chronic myeloid leukemia	18
Myelodysplastic syndrome	5
Acute myelogenous leukemia	4
Acute lymphoblastic leukemia	3
Chronic lymphocytic leukemia	2
Multiple myeloma	1
Disease status at transplantation	
Stable	20
Aggressive	13
Graft source (peripheral blood/bone marrow)	30/3
Conditioning regimen	
Fludarabine+busulfan	26
Fludarabine+melfhalan	5
Fludarabine+cyclophosphamide	2
Cell count	
CD34+ cells ($\times 10^6/kg$), median (range)	7.1 (0.8~22.0)
CD3+ cells ($\times 10^7/kg$), median (range)	22.0 (1.9~87.5)
GVHD prophylaxis	
Cyclosporine+methotrexate	31
Cyclosporine+mycophenolate mofetil	2

GVHD; graft-versus-host disease.

리즘이 요구된다.^{13,14)} 이로 인해 이식 후 면역억제제의 용량 조절과 공여자 림프구 수혈과 같은 면역조절요법이 치료의 중요한 부분을 차지하게 되며 키메리즘 분석의 필요성과 그 정확성이 강조되고 있다.

키메리즘의 분석을 위해 염색체 검사, 적혈구의 표현형, 제한절편길이다형성(restriction fragment length polymorphism) 분석, 그리고 성염색체에 대한 형광동소교잡법(fluorescence in situ hybridization) 등이 이용되어 왔는데 많은 시간이 소요되는 데다 모든 환자에게 적용할 수 없다는 단점이 있다.^{15,16)} 반면 short tandem repeats (STR)를 이용한 polymerase chain reaction (PCR)법은 상대적으로 높은 민감도와 형광표지자를 이용한 정량화가 DNA분석기에서 자동으로 이루어지기 때문에 빠르고 편리한 장점이 있다. 또한 multiplex PCR kit를 이용함으로써 동시에 여러 개의 STR marker를 이용함으로써 거의 모든 증례에서 키메리즘 분석이 가능하여 반복적인 검사에 따르는 비용 및 시간의 절감과 더불어 검사결과의 신뢰도를 높일 수 있다.¹⁵⁻¹⁷⁾

이식대상의 확대와 긍정적인 이식 결과로 인해 최근 국내

의 RIST는 증가 추세에 있으며 키메리즘에 대한 정확한 분석이 요구된다. 이에 저자들은 본 센터에서 형제간 RIST를 시행 받고 순차적으로 STR-PCR을 이용, 정량적 키메리즘을 분석한 환자 33명을 분석하여 그 결과를 보고하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자의 특성

2002년 8월부터 2004년 6월의 기간동안 본 센터에서 HLA가 일치하는 형제로부터 RIST를 받은 환자 중 정기적으로 키메리즘 검사가 실시되었던 33명의 환자를 분석하였다. 남자가 23명, 여자가 10명이었고, 중앙 연령은 42세(28~60세)였다(Table 1). 질환별로 만성골수성백혈병이 18예로 가장 많았으며, 골수이형성증후군 5예, 급성골수성백혈병 4예, 급성림프구성백혈병 3예, 만성림프구성백혈병 2예, 다발성골수종이 1예였다.

2. 치료 방법

모든 환자가 fludarabine (150~180 mg/m²)을 근간으로 하여 주사용 busulfan (6.4 mg/kg, n=26)나 melfhalan (140 mg/m², n=5), cyclophosphamide (120 mg/kg, n=2)을 병합하였다. GVHD 예방 목적으로 31예에서 cyclosporine과 methotrexate (10 mg/m², D1, 3, 6) 병합을, 2예에서 cyclosporine과 mycophenolate mofetil 병합을 사용하였다. 본 센터의 환자 보조요법 원칙에 따라 백혈구 감소시기에 공기여과시설을 갖춘 병실(laminar air flow room by HEPA filter)에서 관리되었으며, 이 기간 중에 감염예방을 위해 멸균식과 예방적 항균요법을 시행하였다.¹⁸⁾ 모든 환자에게 이식 후 7일부터 절대호중구수가 $3.0 \times 10^9/L$ 으로 회복될 때까지 G-CSF가 투여되었다.

3. Multiplex STR-PCR법을 이용한 키메리즘의 분석

환자의 말초전혈을 이용하여 키메리즘을 분석하였는데 이식 후 21일과 3, 6, 12개월에 주기적으로 검사하였으며, 필요에 따라 추가적인 검사를 실시하였다. 전에 기술한 바와 같이 AmpF/STR PCR Amplification Kit (PE Applied Biosystems, Foster City, CA, 미국)을 이용하여 ABI Prism 310 Genetic Analyzer (PE Applied Biosystems)으로 분석하였다.¹⁹⁾ AmpF/STR Identifier Kit에 포함된 16개의 STR 표지자는 D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818, FGA와 Amelogenin이다. 공여자 키메리즘의 정량화는 Nollet 등이 제시한 방법을 이용하여 I형과 II형을 분석하여 평균을 내었으며, III형은 분석에서 제외하였다.¹⁷⁾

4. Real-time quantitative reverse transcriptase-PCR (RQ-PCR)

BCR-ABL 융합 유전자에 대한 RQ-PCR은 전에 기술한 바와 같이 시행하였다.^{20,21)} 간략히 기술하면 iCycler software 2.1 (Bio-Rad, Hercules, CA, 미국)을 이용하여 표준조건 (95°C for 10 minutes, 50 cycles at 95°C for 15 seconds, and 60°C for 1 minute)하에서 PCR을 3차례 시행하였다. 50 uL의 혼합물에는 4 uL의 cDNA검체, 5 uL의10×PCR buffer, 0.2 mM dNTP, 4.5 mM MgCl₂, 0.2 M primer, 140 nM TaqMan 탐식자(Tibmolbiol, Berlin, 독일), 그리고 1.25 U의 DNA polymerase가 포함되도록 하였다. BCR-ABL 정량은 정상적인 ABL 양으로 보정하여 BCR-ABL/ABL mRNA 비로 표현하였고 민감도는 10⁻⁵이었다.

5. 통계 분석

재발한 군과 재발하지 않은 군간의 시기별 공여자 키메리즘의 평균비교는 Mann-Whitney법을 이용하였으며, 완전 공여자 키메리즘 획득까지의 소요시간은 Kaplan-Meir법을 이

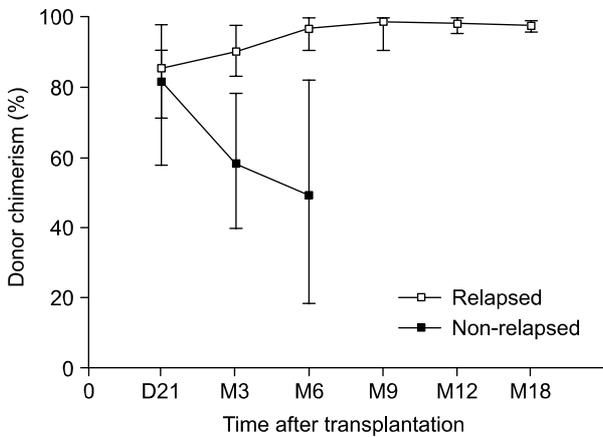


Fig. 1. Serial monitoring of donor chimerism % in patients with relapse and those without relapse.

용하여 분석하였고 해당 군간의 비교는 log-rank 법을 이용하였다. 공여자 키메리즘의 분획과 RQ-PCR의 상관성 분석에는 Pearson 상관성분석을 이용하였다. 통계분석은 SPSS (11.5판)를 이용하였으며, 유의수준은 P<0.05로 정하였다.

결 과

1. 이식 결과

대상환자 모두에서 성공적인 생착이 이루어졌으며, 급성 이식편대숙주병은 12예(36.4%)에서 관찰되었는데, II도 이상은 5예에서 관찰되었다. 만성이식편대숙주병은 분석 가능한 환자 29예 중 20예(68.9%)에서 관찰되었으며, 국소형은 5예, 전신형은 15예에서 관찰되었다. 추적관찰기간의 중앙값은 13.2개월(1.9~26.5개월)이었으며, 재발은 9명의 환자에서 발생하였는데 질환별로 만성골수성백혈병이 6예, 만성림프구성백혈병 1예, 급성골수성백혈병이 2예였고 재발 시기의 중앙값은 3.8개월(1.5~17.3개월)이었다. 공여자 림프구 수혈은 모두 5예에서 시행되었는데, 예방적으로 시행된 1예의 경우 완전 공여자 키메리즘으로의 전환에 실패하였으며, 재발 후 시행된 4예의 경우 만성골수성백혈병 1예에서 분자유전학적 관해가 이루어진 반면 나머지 3예에서는 반응이 관찰되지 않았다. 사망은 5예에서 발생하였는데 4예에서 재발이 원인이었으며 1예에서 심한 급성이식편대숙주병과 동반된 간정맥폐쇄증이 원인이었다.

2. 공여자 키메리즘의 변화

생착 당시 26예의 환자에서 혼합 키메리즘이 관찰되었고, 7예의 환자에서 완전 공여자 키메리즘이 관찰되었다. 조기 재발한 환자의 경우 공여자 키메리즘은 생착 당시 81.8%로 재발하지 않은 군의 85.0%에 비해 낮은 경향을 보였으며(P=0.06), 지속적으로 감소하여 3개월과 6개월의 공여자 키메리즘은 58%와 49%로 재발하지 않은 환자의 91.6%와 97.3%에 비해 통계적으로 유의하게 낮았다(P<0.0001과 P=0.002, Fig. 1, Table 2). 재발하지 않은 환자 24예

Table 2. Comparison of donor chimerism between the patients with relapse and those without relapse

Time after RIST	% donor chimerism, median (range)		P*
	Relapse (n=9)	Non-relapse (n=24)	
Day 21	81.8 (39.5~91.3, n=9)	85.0 (49.5~100.0, n=24)	0.06
Months 3	58.2 (24.1~87.5, n=9)	91.6 (71.4~100.0, n=23)	<0.0001
Months 6	49.2 (18.7~92.7, n=3)	97.3 (84.8~100.0, n=17)	0.002

RIST; reduced-intensity stem cell transplantation, *Mann-Whitney test.

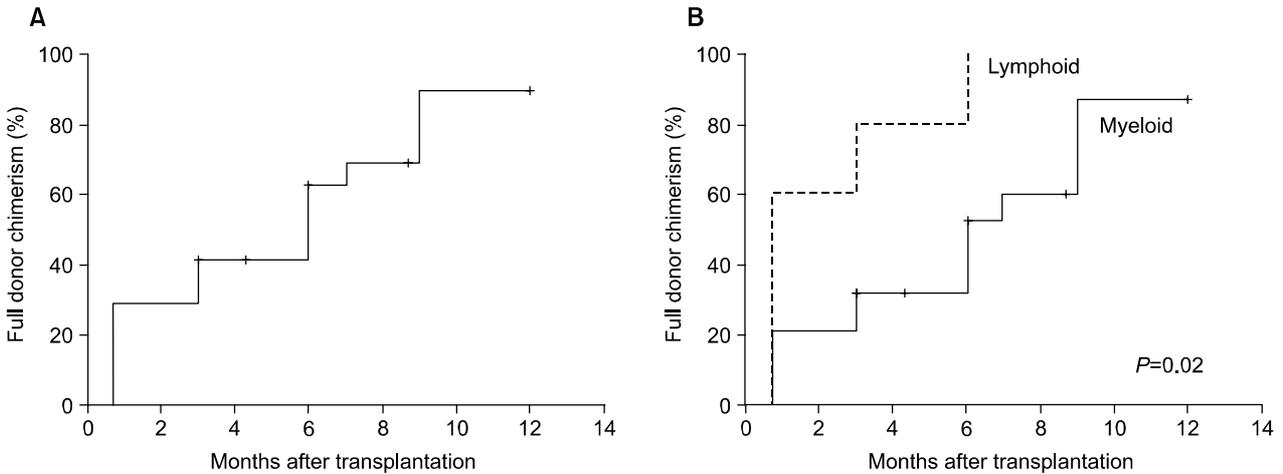


Fig. 2. (A) Time to full donor chimerism in patients (n=24) without relapse. (B) Earlier achievement of full donor chimerism in patients with lymphoid diseases (n=5) compared to those with myeloid diseases (n=19).

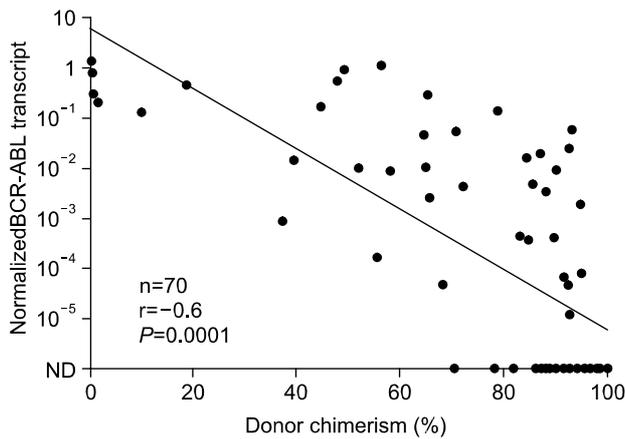


Fig. 3. Correlation between donor chimerism % and normalized BCR-ABL transcript level in patients with chronic myeloid leukemia.

에서의 공여자 키메리즘은 지속적으로 증가하여 13.2개월(중앙값, 범위 2.3~26.5개월)의 추적 관찰 기간동안 17명(71%)에서 관찰되었다. 완전 공여자 키메리즘까지의 시간은 6.0개월(중앙값, 3.1~8.9, Fig. 2A)이었으며, 림프계 질환에서 골수계 질환에 비해 조기에 완전공여자 키메리즘이 관찰되었다(중앙값, 21일 vs 180일, $P=0.02$, Fig. 2B) 시기별로는 이식 후 21일에 33% (8/24), 3개월에 35% (8/23), 6개월에 59% (10/17), 9개월에 85% (11/13), 12개월에 83% (10/12), 그리고 18개월에 100% (3/3)에서 완전 공여자 키메리즘이 관찰되었다.

3. 공여자 키메리즘과 BCR-ABL 전사체 값의 비교

공여자 키메리즘의 변화와 미세잔류병의 변화의 상관성

을 분석하기 위해 STR-PCR결과와 BCR-ABL 융합유전자에 대한 RQ-PCR 결과를 비교하였다. 18명의 만성골수성백혈병 환자에서 동시에 시행된 70쌍의 결과를 분석한 결과 공여자 키메리즘과 미세잔류병 사이에 유의한 상관관계가 있음이 확인되었다($r=-0.6$, $P=0.0001$, Fig. 3). 반면 순차적인 검사에서 공여자 키메리즘의 증감이 BCR-ABL의 증감과 일치하지 않는 경우, 즉 공여자 키메리즘이 감소하는데 BCR-ABL이 감소하거나 그 역관계인 경우가 분석대상 55건 중 9건(16%)에서 관찰되었다.

고 찰

본 연구에서는 대상 환자 모두에서 초기 생착이 이루어지고 초기 이식관련합병증은 1예에서만 관찰되어 fludarabine을 근간으로 하는 저강도의 전처치가 안정적인 생착을 유도하고 초기 합병증이 낮은 것을 재확인할 수 있었다. 생착 당시의 공여자 키메리즘은 약 85%였으며, 관해가 안정적으로 유지된 환자의 경우 약 6개월을 전후하여 완전공여자 키메리즘이 형성되는 것을 확인할 수 있었다. 반면 1년 이내의 재발이 대상 환자의 약 30% 정도에서 관찰되어 재발의 조기 진단 및 치료가 RIST 성공의 중요한 인자임을 시사하고 있다.

재발의 조기발견을 위한 미세잔류병의 추적을 위해 세포유전학적 검사, FISH 혹은 PCR 등을 이용하여 특정 유전자의 이상을 추적하거나 유세포분석기를 이용한 중앙특이 표현형의 분석 등이 사용되고 있다.²¹⁻²³⁾ 특히 RQ-PCR법은 높은 민감도와 정량화의 가능으로 미세잔류 백혈병의 추이를 추적하고 치료방침을 결정하는데 매우 유용한 것으로 보고

되고 있다.^{24,26)} 그러나 약 30%의 급성림프구성백혈병이나 만성골수성백혈병에서 발견되는 BCR-ABL 융합 유전자를 제외하고 추적가능한 표지자를 지닌 백혈병이 10~20%로 제한되어 대부분의 백혈병에 응용할 수 없는 한계가 있다.²²⁾ 반면 STR-PCR법을 이용한 키메리즘의 변화는 모든 이식환자에서 활용가능하며 본 연구를 통해 재발을 예측하는 방법으로 이용될 수 있음이 확인되었다.

재발과 키메리즘의 변화에 대한 초기 연구들이 명확한 답변을 제시하지 못한 반면,^{27,28)} STR-PCR법을 이용한 순차적 분석을 통해 혼합키메리즘의 증가는 재발의 위험성이 높음을 제시하는 결과를 보였다.^{29,30)} 본 연구에서도 공여자 키메리즘의 정량적 분석을 통해 공여자 키메리즘이 감소하는 환자에서 재발이 관찰되어 그 유용성을 확인할 수 있었다. 특히 이식 후 3개월 이내에 공여자 키메리즘의 증가가 관찰되지 않은 환자는 모두 재발하여 초기의 키메리즘의 변화가 재발을 예측하는 데 유용함을 알 수 있었다. 또한 본 연구에서는 키메리즘의 변화와 미세잔류병의 변화가 유의하게 상관성이 있는 것을 보여주었고 있다. 이는 만성골수성백혈병에서 RQ-PCR이 매우 유용한 미세잔류병 추적검사임을 고려할 때 키메리즘의 변화가 미세잔류병을 상당 정도 반영하고 있음을 의미하는 것이어서 특정 추적표지자가 없는 질환에서는 이를 재발의 위험성을 예측하는 검사로 이용할 수 있음을 시사하는 것이다. 물론 키메리즘의 상태가 미세잔류병의 직접적인 표지자는 아니기 때문에 재발을 예측하는 방법으로서의 키메리즘 분석에 대한 회의적인 보고도 있다.^{31,32)} 실제로 본 연구에서 개별 환자에서의 순차적인 추적검사에서 공여자 키메리즘의 변화가 미세잔류병의 변화와 일치하지 않는 경우가 약 16%에서 관찰되었기 때문에 키메리즘과 미세잔류병의 유의한 상관성에도 불구하고 각 환자에서 이를 근거로 재발을 조기 진단하는 것에 한계가 있을 것이다. 그러므로 키메리즘의 상태는 이식편의 생착 상태와 그에 따른 동종면역반응과 면역관용을 반영하므로 미세잔류병의 직접적인 표지자보다는 재발의 위험인자로 고려될 수 있을 것이다.

키메리즘의 다양한 임상적 유용성을 분석할 때 고려할 첫 번째 내용이 검사법의 민감도이다. 기존의 염색체검사나 RFLP법이 5~10%의 낮은 민감도와 정량화가 불가능한 반면 본 연구에서 사용된 STR-PCR의 경우 민감도가 1~5%로 상대적으로 높고 정량화가 가능한 장점이 있다.^{16,33)} RQ-PCR은 이보다 높은 민감도를 지니고 있어 이의 임상적 유용성에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.^{34,35)} 두 번째로 전혈보다 혈액세포의 아형에 따른 키메리즘을 분석한 경우 임상적 유용성이 더 높은 것으로 알려져 있다.^{36,37)} 또한 아형별 분석은 민감도를 향상시키는데도 도움

이 되는 것으로 알려져 있다. 이외에도 전처치의 강도, 질환의 종류와 이식당시의 상태, 그리고 키메리즘의 분석 주기와 횟수 등도 키메리즘의 의미에 영향을 끼치는 인자들이다. RIST 후에는 안정적인 생착의 확인을 목적으로 초기 최소 2주 간격의 검사가 권장되고 있다.³⁸⁾ 치료 시기와 관련하여 만성골수성백혈병의 경우 6개월 이내의 공여자 림프구 수혈은 질환의 진행을 막는 긍정적인 측면이 있음에도 이식편대숙주병과 같은 합병증으로 인해 생명 연장의 효과가 없었다.²⁶⁾ 반면, 급성백혈병은 3개월 이내의 완전 공여자 키메리즘이 재발 방지의 전제가 되므로 반복적인 검사와 적극적인 면역치료가 이식 성적의 향상에 도움이 될 것으로 생각된다.³⁹⁾ 즉, 질환이 급성인지 만성인지에 따라, 혹은 골수성인지 림프구성인지에 따라 검사의 스케줄 및 면역치료의 시기를 결정하는 것이 중요하다. 본 연구는 fludarabine을 근간으로 하는 저강도 전처치 후 생착 변화와 이의 재발과의 연관성을 통해 STR-PCR의 유용성을 보여주었으며, 키메리즘의 변화와 미세잔류병의 역동학과의 비교, 분석을 통해 그 유의성을 함께 제시하였다. 물론 본 연구가 상대적으로 적은 환자를 대상으로 하였으며, 대상 질환이 다양하며, 아형별 키메리즘 분석이 아닌 전혈을 이용한 한계를 지니고 있다. 향후 동일한 질환군을 대상으로 한 연구와 아형별 키메리즘 분석이 많은 수의 환자를 대상으로 실시되어야 할 것이며, 새로운 키메리즘 분석법에 대한 연구도 병행되어야 할 것이다.

요 약

연구배경: 저강도 전처치 조혈모세포이식(RIST)은 동종 이식 후의 이식관련사망율을 감소시킬 수 있으나 재발의 증가가 제한점이다. 본 연구는 키메리즘의 분석이 RIST 후의 재발을 조기에 진단하는 데 도움이 되는지 알아보려고 시도되었다.

방법: HLA가 일치하는 형제로부터 RIST를 받은 33명의 환자를 대상으로 하였으며, 진단별로 만성골수성백혈병이 18예, 급성백혈병 7예, 골수이형성증후군 5예, 만성림프구성백혈병 2예, 그리고 다발성골수종이 1예였다. 키메리즘 분석은 말초의 전혈을 이용하여 multiplex short tandem repeat에 대한 PCR을 시행하였고, 이식 후 21일과 이후 3개월 간격으로 실시하였다. 만성골수성백혈병 환자에서는 BCR-ABL 전사체에 대한 실시간 정량적 중합효소연쇄반응을 시행하였다.

결과: 모든 환자에서 일차 생착이 확인되었으며 13.2개월(중앙값, 1.9~26.5개월)의 추적관찰 기간동안 9명에서 재발이 관찰되었다. 공여자 키메리즘의 분획은 재발한 환자의

경우 21일과 3개월, 6개월에서 각각 81.8%, 58.2%, 49.2%였던 반면, 관해가 유지되는 환자의 경우 85.0%, 91.6%, 97.3%였다. 두 군간에 3개월과 6개월의 수치는 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 공여자 키메리즘의 분획과 BCR- ALB 전사체의 보정값 사이에는 통계적으로 유의한 역상관 관계가 있음이 관찰되었다($r=-0.6, P=0.0001$).

결론: 본 연구는 순차적인 키메리즘의 정량화가 RIST후 재발환자를 예측하는데 유용함을 제시하고 있으며, 키메리즘의 변화가 이식 후 질환의 진행을 예방하기 위한 면역조절요법의 지침이 될 수 있음을 보여주고 있다.

참 고 문 헌

- 1) Armitage JO: Bone marrow transplantation. *N Engl J Med* 330:827-838, 1994
- 2) Thomas ED: The role of marrow transplantation in the eradication of malignant disease. *Cancer* 49:1963-1969, 1982
- 3) Thomas ED: Marrow transplantation for malignant diseases. *J Clin Oncol* 1:517-531, 1983
- 4) de Witte T, Hermans J, Vossen J, Bacigalupo A, Meloni G, Jacobsen N, Ruutu T, Ljungman P, Gratwohl A, Runde V, Niederwieser D, van Biezen A, Devergie A, Cornelissen J, Jouet JP, Arnold R, Apperley J: Haematopoietic stem cell transplantation for patients with myelo-dysplastic syndromes and secondary acute myeloid leukaemias: a report on behalf of the Chronic Leukaemia Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Br J Haematol* 110:620-630, 2000
- 5) Sierra J, Perez WS, Rozman C, Carreras E, Klein JP, Rizzo JD, Davies SM, Lazarus HM, Bredeson CN, Marks DI, Canals C, Boogaerts MA, Goldman J, Champlin RE, Keating A, Weisdorf DJ, de Witte TM, Horowitz MM: Bone marrow transplantation from HLA-identical siblings as treatment for myelodysplasia. *Blood* 100:1997-2004, 2002
- 7) Gale RP, Champlin RE: How does bone-marrow transplantation cure leukaemia? *Lancet* 2:28-30, 1984
- 8) Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, Hertenstein B, Jacobsen N, Arcese W, Ljungman P, Ferrant A, Verdonck L, Niederwieser D, van Rhee F, Mittermueller J, de Witte, Holler E, Ansari H: Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood* 86: 2041-2050, 1995
- 9) Collins RH Jr, Shpilberg O, Drobyski WR, Porter DL, Giral S, Champlin R, Goodman SA, Wolff SN, Hu W, Verfaillie C, List A, Dalton W, Ognoskie N, Chetrit A, Antin JH, Nemaunaitis J: Donor leukocyte infusions in 140 patients with relapsed malignancy after allogeneic bone marrow transplantation. *J Clin Oncol* 15:433-444, 1997
- 10) Park SJ, Min WS, Yang IH, Kim HJ, Min CK, Eom HS, Kim DW, Han CW, Lee JW, Kim CC: Effects of mixed chimerism

and immune modulation on GVHD, disease recurrence and survival after HLA-identical marrow transplantation for hematologic malignancies. *Korean J Intern Med* 15:224-231, 2000

- 11) Huss R, Deeg HJ, Gooley T, Bryant E, Leisenring W, Clift R, Buckner CD, Martin P, Storb R, Appelbaum FR: Effect of mixed chimerism on graft-versus-host disease, disease recurrence and survival after HLA-identical marrow transplantation for aplastic anemia or chronic myelogenous leukemia. *Bone Marrow Transplant* 18:767-776, 1996
- 12) Bader P, Beck J, Frey A, Schlegel PG, Hebarth H, Handgretinger R, Einsele H, Niemeyer C, Benda N, Faul C, Kanz L, Niethammer D, Klingebiel T: Serial and quantitative analysis of mixed hematopoietic chimerism by PCR in patients with acute leukemias allows the prediction of relapse after allogeneic BMT. *Bone Marrow Transplant* 21:487-495, 1998
- 13) Davies SM, Kollman C, Anasetti C, Antin JH, Gajewski J, Casper JT, Nademane A, Noreen H, King R, Confer D, Kernan NA: Engraftment and survival after unrelated-donor bone marrow transplantation: a report from the national marrow donor program. *Blood* 96:4096-4102, 2000
- 14) Childs R, Clave E, Contentin N, Jayasekera D, Hensel N, Leitman S, Read EJ, Carter C, Bahceci E, Young NS, Barrett AJ: Engraftment kinetics after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: full donor T-cell chimerism precedes alloimmune responses. *Blood* 94:3234-3241, 1999
- 15) Thiede C, Bornhauser M, Ehninger G: Strategies and clinical implications of chimerism diagnostics after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Acta Haematol* 112:16-23, 2004
- 16) Bader P, Niethammer D, Willasch A, Kreyenberg H, Klingebiel T: How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation? *Bone Marrow Transplant* 35:107-119, 2005
- 17) Nollet F, Billiet J, Selleslag D, Criel A: Standardisation of multiplex fluorescent short tandem repeat analysis for chimerism testing. *Bone Marrow Transplant* 28:511-518, 2001
- 18) 민창기, 엄기성, 김동욱, 이종욱, 민우성, 김춘추: 비혈연간 또는 HLA 부분 일치 혈연간 동종골수이식에서 급성 이식편대숙주 질환 예방. *대한조혈모세포이식학회지* 4:185-195, 1999
- 19) Kim YL, Hwang JY, Kim YJ, Lee S, Chung NG, Goh HG, Kim CC, Kim DW: Allele frequencies of 15 STR loci using AmpFISTR Identifier kit in a Korean population. *Forensic Sci Int* 136:92-95, 2003
- 20) 김유진, 김동욱, 이유경, 김유리, 박치영, 신호진, 박윤희, 이석, 오일환, 김태규, 한태희, 김춘추: 가속기 및 급성기 만성골수성 백혈병 환자에서 STI571의 치료효과와 분자생물학적 반응. *대한혈액학회지* 37:9-16, 2002
- 21) Kim YJ, Kim DW, Lee S, Kim HJ, Kim YL, Hwang JY, Oh IH, Park YH, Lee YK, Min CK, Kim TG, Han TH, Min WS, Kim CC: Comprehensive comparison of FISH, RT-PCR, and Q-RT-PCR for monitoring the BCRABL gene after hemato-

- poietic stem cell transplantation in CML. *Eur J Haematol* 68: 272-280, 2002
- 22) Szczepanski T, Orfao A, van der Velden VH, San Miguel JF, van Dongen JJ: Minimal residual disease in leukaemia patients. *Lancet Oncol* 2:409-417, 2001
 - 23) Lee YK, Lee DW, Kim YL, Lee S, Min CK, Kim YJ, Oh IH, Kim TG, Kim CC, Kim DW: Related detection of the BCR-ABL gene by interphase fluorescence in situ hybridization (iFISH) in chronic myelogenous leukemia patients after hemopoietic stem cell transplantation: the feasibility of iFISH monitoring of therapeutic response in peripheral blood. *Int J Hematol* 76:180-185, 2002
 - 24) Eder M, Battmer K, Kafert S, Stucki A, Ganser A, Hertenstein B: Monitoring of BCR-ABL expression using real-time RT-PCR in CML after bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation. *Leukemia* 13:1383-1389, 1999
 - 25) Kim YJ, Kim DW, Lee S, Min CK, Goh HG, Kim SH, Lee JY, Kim YL, Kim HJ, Kim HJ, Lee JW, Kim TG, Min WS, Kim CC: Early prediction of molecular remission by monitoring BCR-ABL transcript levels in patients achieving a complete cytogenetic response after imatinib therapy for post-transplantation chronic myelogenous leukemia relapse. *Biol Blood Marrow Transplant* 10:718-725, 2004
 - 26) Kim YJ, Kim DW, Lee S, Chung NG, Hwang JY, Kim YL, Min CK, Kim CC: Preemptive treatment of minimal residual disease post transplant in CML using real-time quantitative RT-PCR: a prospective, randomized trial. *Bone Marrow Transplant* 33:535-542, 2004
 - 27) Lawler M, Humphries P, McCann SR: Evaluation of mixed chimerism by in vitro amplification of dinucleotide repeat sequences using the polymerase chain reaction. *Blood* 77: 2504-2514, 1991
 - 28) van Leeuwen JE, van Tol MJ, Joosten AM, Wijnen JT, Khan PM, Vossen JM: Mixed T-lymphoid chimerism after allogeneic bone marrow transplantation for hematologic malignancies of children is not correlated with relapse. *Blood* 82: 1921-1928, 1993
 - 29) Bader P, Holle W, Klingebiel T, Handgretinger R, Benda N, Schlegel PG, Niethammer D, Beck J: Mixed hematopoietic chimerism after allogeneic bone marrow transplantation: the impact of quantitative PCR analysis for prediction of relapse and graft rejection in children. *Bone Marrow Transplant* 19: 697-702, 1997
 - 30) Ramirez M, Diaz MA, Garcia-Sanchez F, Velasco M, Casado F, Villa M, Vicario JL, Madero L: Chimerism after allogeneic hematopoietic cell transplantation in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplant* 18:1161-1165, 1996
 - 31) Choi SJ, Lee KH, Lee JH, Kim S, Chung HJ, Lee JS, Kim SH, Park CJ, Chi HS, Kim WK: Prognostic value of hematopoietic chimerism in patients with acute leukemia after allogeneic bone marrow transplantation: a prospective study. *Bone Marrow Transplant* 26:327-332, 2000
 - 32) Schaap N, Schattenberg A, Mensink E, Preijers F, Hillegers M, Knops R, Pennings A, Boezeman J, Geurts van Kessel A, de Pauw B, de Witte T: Long-term follow-up of persisting mixed chimerism after partially T cell-depleted allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia* 16:13-21, 2002
 - 33) Kreyenberg H, Holle W, Mohrle S, Niethammer D, Bader P: Quantitative analysis of chimerism after allogeneic stem cell transplantation by PCR amplification of microsatellite markers and capillary electrophoresis with fluorescence detection: the Tuebingen experience. *Leukemia* 17:237-240, 2003
 - 34) Alizadeh M, Bernard M, Danic B, Dauriac C, Birebent B, Lapart C, Lamy T, Le Prise PY, Beauplet A, Bories D, Semana G, Quelvennec E: Quantitative assessment of hematopoietic chimerism after bone marrow transplantation by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Blood* 99: 4618-4625, 2002
 - 35) Maas F, Schaap N, Kolen S, Zoetbrood A, Buno I, Dolstra H, de Witte T, Schattenberg A, van de Wiel-van Kemenade E: Quantification of donor and recipient hemopoietic cells by real-time PCR of single nucleotide polymorphisms. *Leukemia* 17:621-629, 2003
 - 36) Fernandez-Aviles F, Urbano-Ispizua A, Aymerich M, Colomer D, Rovira M, Martinez C, Nadal E, Talam C, Carreras E, Montserrat E: Serial quantification of lymphoid and myeloid mixed chimerism using multiplex PCR amplification of short tandem repeat-markers predicts graft rejection and relapse, respectively, after allogeneic transplantation of CD34+ selected cells from peripheral blood. *Leukemia* 17:613-620, 2003
 - 37) Baron F, Baker JE, Storb R, Gooley TA, Sandmaier BM, Maris MB, Maloney DG, Heimfeld S, Oparin D, Zellmer E, Radich JP, Grumet FC, Blume KG, Chauncey TR, Little MT: Kinetics of engraftment in patients with hematologic malignancies given allogeneic hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning. *Blood* 104:2254-2262, 2004
 - 38) Antin JH, Childs R, Filipovich AH, Giralt S, Mackinnon S, Spitzer T, Weisdorf D: Establishment of complete and mixed donor chimerism after allogeneic lymphohematopoietic transplantation: recommendations from a workshop at the 2001 Tandem Meetings of the International Bone Marrow Transplant Registry and the American Society of Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 7:473-485, 2001
 - 39) Massenkeil G, Nagy M, Lawang M, Rosen O, Genvresse I, Geserick G, Dorken B, Arnold R: Reduced intensity conditioning and prophylactic DLI can cure patients with high-risk acute leukaemias if complete donor chimerism can be achieved. *Bone Marrow Transplant* 31:339-345, 2003