

성인 급성 골수성 백혈병 환자에서 *FLT3* 유전자의 Internal Tandem Duplication 변이빈도

이정녀^{1,3} · 김혜란¹ · 신정환^{1,3} · 주영돈²

인제대학교 의과대학 부산백병원 진단검사의학교실¹, 내과학교실², 인제대학교 백인제기념임상의학연구소³

Prevalence of *FLT3* Internal Tandem Duplication in Adult Acute Myelogenous Leukemia

Jeong Nyeo Lee, M.D.^{1,3}, Hye Ran Kim, M.D.¹, Jeong Hwan Shin, M.D.^{1,3}, and Young Don Joo, M.D.²

Departments of Laboratory Medicine¹ and Internal Medicine², Busan Paik Hospital, College of Medicine; Paik Institute for Clinical Research³, Inje University, Busan, Korea

Background : *fms*-like tyrosine kinase (*FLT3*), a member of the class III receptor tyrosine kinases, regulates the proliferation and differentiation of hematopoietic stem cells. An internal tandem duplication of the *FLT3* gene (*FLT3/ITD*) has been reported in acute myelogenous leukemia (AML) and may be associated with a poor prognosis. In this study we determined the prevalence and prognostic significance of *FLT3/ITD* in adult AML patients.

Methods : This study included 52 adult *de novo* AML. Exon 14 and 15 of the *FLT3* gene were amplified by PCR and the PCR products were analyzed by 3730XL DNA analyzer (Applied Biosystems, USA) and GeneMapper Software.

Results : *FLT3/ITD* was found in 15 (28.8%) of the 52 AML patients. The presence of *FLT3/ITD* was significantly associated with absolute leukocyte counts ($P=0.002$) and bone marrow blast counts ($P=0.036$). *FLT3/ITD* was also more frequent in patients with normal karyotype (7 of 18) than in those with cytogenetic aberrations (3 of 25). Patients with t(15;17) showed a higher prevalence of *FLT3/ITD* (2 of 7). *FLT3/ITD* was significantly associated with overall survival ($P<0.042$).

Conclusions : Our data indicate that *FLT3/ITD* is a common alteration in adult AML patients. Although based on a study with a limited number of AML patients, *FLT3/ITD* is a prognostic marker in patients with AML. (*Korean J Lab Med* 2007;27:237-43)

Key Words : Adult, Acute myelogenous leukemia, *FLT3/ITD*

서 론

fms-like tyrosine kinase (*FLT3*)는 class III tyrosine kinase

접 수 : 2006년 9월 14일

접수번호 : KJLM1987

수정본접수 : 2007년 5월 30일

게재승인일 : 2007년 6월 19일

교신저자 : 이정녀

우 614-110 부산광역시 부산진구 개금동 633-165

인제대학교 의과대학 부산백병원 진단검사의학교실

전화 : 051-890-6862, Fax : 051-893-1562

E-mail : jeong418@medimail.co.kr

*본 논문은 2004년도 인제대학교 학술연구조성비 보조에 의한 것임.

수용체의 일종으로 정상적으로 조혈모세포에 선택적으로 발현되어 조혈모세포의 증식, 분화와 생존에 관여한다[1, 2]. *FLT3*는 배위자(ligand)와 결합하게 되면 수용체가 이배체가 되면서 *FLT3*의 tyrosine기가 연속적으로 인산화되고 이어서 세포 내 여러 단계의 신호체계의 활성화를 유도하여 세포의 증식과 분화가 일어난다[3, 4]. *FLT3* 유전자의 이상이 일어나면 정상적인 인산화의 자동억제조절기능이 상실되어 지속적으로 tyrosine kinase의 인산화가 일어나게 되고 *RAS*, *MAPK*, *STAT5* 등의 신호체계가 활성화됨으로써 세포의 자율적인 증식이 일어나게 되어 백혈병유발에 관여하는 것으로 알려져 있다[5-8].

FLT3 유전자 변이는 급성 골수성 백혈병(acute myelogenous leukemia, AML)에서 가장 흔히 나타나는 유전자 변이로 성인 AML 환자에서 진단 시에 internal tandem duplication (*FLT3*/ITD)이 검출되면 예후가 불량하며 관해유도기간과 전체생존율에 관여하는 독립적인 인자로 작용한다고 하였고[9-12], 특히 정상 염색체 핵형을 가진 AML 환자에서 *FLT3* 유전자 변이가 있을 때 유의하게 생존율이 감소하여 정상 핵형을 가진 환자의 임상적 예후를 예측하는데 유용하다고 하였다[9, 13, 14]. 소아 AML 환자에서는 *FLT3*/ITD는 5-16.5%로 낮은 빈도로 검출되지만 *FLT3*/ITD가 검출되는 환자는 역시 예후가 불량한 것으로 보고되고 있다[15, 16].

그러나 국내의 연구에서는 일부 다른 결과들을 보고하는데 유등[17]은 급성 전골수성 백혈병(acute promyelocytic leukemia, APL)에서 *FLT3*/ITD가 9.2% 검출되었고, *FLT3* 변이군에서 치료성적과 생존율이 저조하여 *FLT3* 변이가 APL의 임상상에 영향을 주는 지표라고 하였지만, Shih 등[12]과 장 등[18]은 APL에서는 *FLT3*/ITD 여부가 전체 생존율과 무병 생존율 및 완전 관해율에는 유의한 차이가 없어 예후적 의미가 없다고 상반된 결과를 보고하였다. 또한 손 등[19]은 AML 진단 당시에는 14.7%, 재발한 경우는 13.2%에서 *FLT3*/ITD가 검출되며, *FLT3*/ITD 양성인 환자군과 음성인 환자군에서 진단에서 재발되는 기간까지 유의한 차이를 보이지 않는다고 하였지만, 장 등[18]은 APL 환자를 제외한 AML 환자에서 무병생존율과 전체 생존율이 *FLT3*/ITD 양성인 환자군에서 유의하게 낮은 것으로 보고하였다.

이와 같이 일반적으로 *FLT3*/ITD 검출 여부는 성인 AML 환자의 치료 성적 및 예후와 밀접한 관련성이 있는 것으로 알려져 있지만 국내의 *FLT3*/ITD 검출에 관한 연구들에서는 보고자에 따라 서로 다른 결과를 보이고 있다. 이는 대상 환자의 규모, 검출방법의 예민도, 추적관찰기간 등이 서로 다르기 때문인 것으로 생각되며, 저자는 유전자염기서열분석기를 이용한 유전자스캔(gene scan) 분석을 통하여 AML 환자에서 *FLT3*/ITD의 빈도와 예후인자로서의 가치를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2001년 6월에서 2003년 12월까지 인제대학교 부산백병원 진단 검사학과에서 AML 환자로 진단된 환자에서 골수 검체가 보관 가능하였던 52예를 대상으로 하였다. 환자는 남자 25예, 여자 27예였으며, 연령 분포는 22-79세(중앙값 49세)였다. AML의 아형별 분포를 보면 M2가 18명으로 가장 많았으며, M1이 17명, M3가 11명이었고, M0와 M5는 각각 2명이며, M6와 M7은 각각 1명이었다. 염색체결과는 t(8:21)와 t(15:17)이 각각 7명이었고, 정상 염색체 핵형은 18명에서 관찰되었다. 3개 이상의 염색체 이상

을 가진 예는 4명이었고, 염색체 검사결과를 얻을 수 없는 예는 9명이었다.

2. *FLT3*/ITD의 유전자스캔 분석

진단 당시의 골수검체에서 Ficoll-Hypaque을 사용하여 단핵세포를 분리한 다음 -70°C에서 보관한 다음 DNAzol 시약(Gibco BRL, Eggenstein, Germany)를 사용하여 genomic DNA를 추출하였다. *FLT3* 유전자의 시발체는 Zwann 등[16]의 방법에 따라 선택하였고, 5'-시발체에는 6-carboxyfluorescein (FAM) 형광색소를 부착하였다. 시발체의 염기서열은 11F, 5'-6 FAM-GC-AATTTAGGTATGAAAGCCAGC-3', 12R, 5'-CCTTCA-GCATTTTGACGGCAACC-3'이다. PCR 반응물 조제는 10x 반응완충액, 3 mM MgCl₂, 200 μM dNTPs (Promega, Madison, WI, USA), 0.2 μM 시발체(Applied Biosystem, Foster City, CA, USA), 2.5 U Taq DNA polymerase (Promega)를 넣고 DNA 농도는 10 ng을 사용하여 최종 반응량이 50 μL가 되도록 하였다. PCR은 다음과 같은 조건으로 시행하였다. PCR 반응 기기는 GeneAmp 9700 System (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA)이며, 94°C에서 2분 반응시키고 94°C에서 30초, 56°C에서 1분, 72°C에서 2분간 35회 실시한 다음 72°C, 7분 동안 연장반응시켰다. 2% 아가로오즈겔을 사용하여 PCR 산물을 전기영동하여 증폭 여부를 확인한 다음 PCR 산물을 증류수로 100배 희석하고 이를 1 μL 취하여 10 μL의 formamide와 0.5 μL의 size standard에 희석시킨다. 3730XL DNA analyzer (Applied Biosystems)와 GeneMapper Software ver. 3.7를 이용하여 분석하였다[12]. 통계분석은 MedCalc 7.0 소프트웨어 (MedCalc®, Mariakerke, Belgium)를 이용하였다.

결 과

1. 임상양상에 따른 *FLT3*/ITD 변이 분포

전체 52명의 AML 환자에서 *FLT3*/ITD는 15명(28.8%)에서 검출되었다. *FLT3*/ITD가 검출되는 환자와 검출되지 않은 환자들 사이에서 진단 당시의 나이와 혈소판 수에는 유의한 차이가 없었으나, *FLT3*/ITD 검출은 여자 환자에서 높았다($P<0.01$). 말초혈액의 총 백혈구수가 높을수록 골수아세포 비율이 높을수록 *FLT3*/ITD 검출률이 높았다. 골수아세포 비율은 *FLT3*/ITD 양성을 가진 환자에서는 87% (35-92%)이며, 음성 환자의 경우는 69% (31-95%)로 두 군 사이에 의미있는 차이를 보였다($P<0.05$). FAB 분류에 따른 AML 아형별로 보면 M1 아형의 경우 17명 중에서 6명(35.3%), M2 아형은 18명 중에서 3명(16.7%), M3 아형은 11명 중에서 5명(45.5%)에서, 2명의 M5 아형에서는 1명이 양성으로 검출되었다. 각각 1명씩 포함되는 M6와 M7 아형에서는 검

Table 1. Clinical characteristics according to the FLT3 status in patients with *de novo* AML

	Total patients	FLT3 positive patients	FLT3 negative patients
N of cases (%)	52	15 (28.8%)	37 (71.2%)
Age, yr, median (range)	50 (20-80)	53 (20-80)	49 (22-79)
Male/Female ratio	25:27	6:9*	19:18
WBC count × 10 ⁹ /L, median (range)	14.1 (0.7-145)	63.2 (2.7-145)*	12.9 (0.7-125)
Platelet count × 10 ¹² /L, median (range)	40 (1.5-246)	48 (12-246)	33 (1.5-150)
Bone marrow blasts, % (range)	72 (31-95)	87 (35-92) [†]	69 (31-95)
FAB classification			
M0	2	0	2
M1	17	6	11
M2	18	3	15
M3	11	5	6
M5	2	1	1
M6	1	0	1
M7	1	0	1
Cytogenetic results			
Normal	18	7	11
t(8;21)	7	0	7
t(15;17)	7	2	5
t(3;3)	1	0	1
t(7;11)	1	1	0
t(1;19)	1	0	1
+8/+10/+11	4	0	4
Multiple aberrations	4	0	4
N/A*	9	5	4

N/A; 5 patients had no mitotic cells in culture and cytogenetic analysis could not be performed on four patients.

*P<0.01; [†]P<0.05.

Abbreviations: FLT3, *fms*-like tyrosine kinase; AML, acute myelogenous leukemia.

출되지 않았다(Table 1).

2. FLT3 유전자의 유전자스캔 분석 결과

PCR 산물을 이용한 유전자스캔 분석에서 FLT3 유전자의 야생형에서는 329 bp 크기의 단일 peak가 만들어지지만 FLT3/ITD가 검출되는 15명에서는 329 bp 크기의 peak와 함께 350 bp 에서부터 402 bp까지 다양한 크기의 peak가 동시에 검출되었다. 3명(20%)의 환자에서는 3개의 peak가 검출되었는데 329-353-382 bp, 329-353-359 bp, 329-379-396 bp 등이 관찰되었다. FLT3/ITD가 검출된 15예 중에서 8예는 야생형과 변이형이 비가 0.42에서 0.59 사이에 분포하지만 2예에서는 야생형과 변이형의 peak 크기가 거의 같았고 일부에서는 아주 적은 FLT3/ITD의 peak가 관찰되었다(Fig. 1, Table 2).

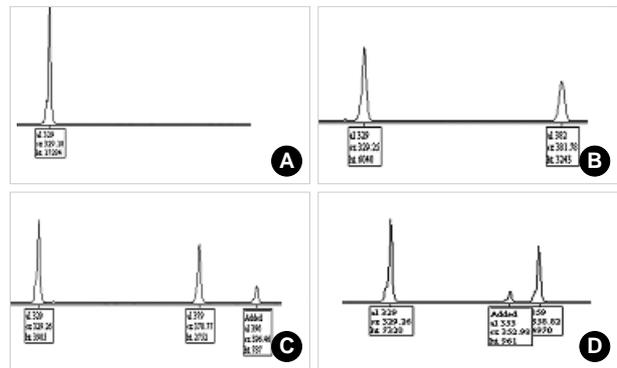


Fig. 1. Gene scan analysis of FLT3/ITD in patients with ITD of different size. (A) wild type of FLT3 gene, (B-D) wild type and various size of ITD in FLT3 gene.

Abbreviations: FLT3, *fms*-like tyrosine kinase; ITD, internal tandem duplication.

Table 2. Cytogenetic and gene scan analysis in patients with FLT3/ITD

No.	Age/Sex	WBC (× 10 ⁹ /L)	Platelet (× 10 ⁹ /L)	Blast (%)	FAB	Allele	FLT3 ratio wild/mutant	Chromosome
1	44/F	123.8	41	86	M1	329-356	0.52	46,XX,t(7;11)(p15;p15)[20]
2	51/M	7.8	30	63	M1	329-382	0.44	46,XY[20]
3	20/F	133.8	60	83	M1	329-382	0.99	46,XX[20]
4	53/F	2.7	86	92	M1	329-350	0.59	46,XX
5	66/M	53.0	84	89	M1	329-396	0.42	46,XY[7]
6	58/M	7.5	36	89	M1	329-390	0.33	No Test
7	47/M	72.2	48	92	M2	329-353-382	0.90	No mitotic cell
8	80/F	145.0	151	86	M2	329-376	0.35	No mitotic cell
9	67/M	11.5	246	61	M2	329-402	0.16	46,XY
10	39/F	43.7	20	88	M3	329-350	0.33	46,XX
11	43/F	7.9	15	87	M3	329-350	0.45	46,XX,t(15;17)(q22;q12)[15]
12	66/F	86.5	33	43	M3	329-382	0.35	No test
13	70/F	101.9	112	83	M3	329-353-359	0.45	No test
14	55/F	95.3	23	91	M3	329-379-396	0.48	46,XX,t(15;17)(q22;q12)[20]
15	37/M	63.2	205	35	M5b	329-379	0.25	46,XY[20]

Abbreviations: See Fig. 1.

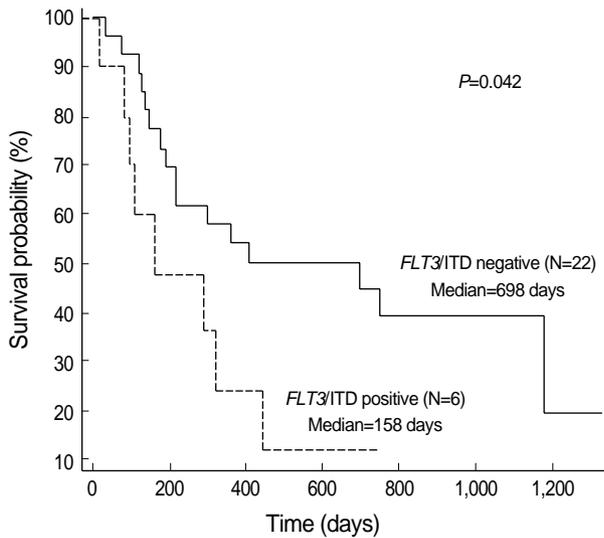


Fig. 2. Kaplan-Meier plot of the overall survival of patients with acute myelogenous leukemia according to *FLT3* mutations. Abbreviations: See Fig. 1.

3. 염색체 분석결과와 *FLT3/ITD* 변이 분포 양상

*FLT3/ITD*는 정상 염색체 핵형을 가진 18명의 환자 중에서 7명(38.9%)에서 검출되었고, *t*(15;17)를 보이는 7명 환자에서는 2명(28.6%)에서 검출되었다. 2가지 이상의 염색체 이상을 보이는 4명의 환자에서는 *FLT3/ITD*는 검출되지 않았고, *FLT3/ITD*가 검출된 5명 중 3명에서는 증기세포를 관찰할 수 없었으며, 2명은 염색체검사를 시행하지 못했다. 대상환자가 너무 적어 통계처리하는 하지 않았지만, *FLT3/ITD* 검출은 정상 염색체 핵형을 보이거나 *t*(15;17)를 가진 환자에서 높게 나오는 경향을 보였다. 2가지 이상의 염색체 이상을 보이거나 섞임증(mosaicism)을 가진 환자에서는 *FLT3/ITD*는 검출되지 않았다. *FLT3/ITD* 음성 환자들에서 염색체 결과를 알 수 없는 4예를 제외한 33예에서 22예(66.7%)의 경우 다양한 염색체 이상이 관찰되었고, 11예(33.3%)는 정상 염색체를 보였다.

4. *FLT3/ITD* 검출결과에 따른 예후분석

M3를 제외하고 치료를 시행한 환자는 28명이었다. *FLT3/ITD* 양성군 6명, *FLT3/ITD* 음성군은 22명이었고, 완전관해율은 *FLT3/ITD* 양성군에서 70%, *FLT3/ITD* 음성군에서는 77.4%로 유의한 차이를 보이지 않았다. *FLT3/ITD* 양성군에서 전체 생존기간($P<0.05$)이 의미있게 짧았지만 무병생존기간($P=0.353$)에서는 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 2).

고 찰

FLT3 유전자는 다른 class III tyrosine kinase 수용체(예:

FMS, KIT, PDGF)와 마찬가지로 세포막 바깥에 5개의 면역글로블린 유사 영역(domain), 각각 한 개의 막통과 영역(transmembrane domain) 및 막결 영역(juxtamembrane domain), 2개의 세포내 tyrosine kinase 영역 및 한 개의 C-terminal 영역으로 구성되어있다. 13번 염색체의 장완(13q12)에 위치하며 24개의 exon으로 구성되어 있고 약 100 kb의 크기를 가진다[20].

FLT 유전자의 막결 영역에서 일어나는 ITD는 주로 exon 14와 exon 15의 시작부위에서 일어나는데 성인 AML 환자의 19-32%[7, 10, 14, 21], 골수이형성증후군 환자의 약 3%에서 검출되며 급성 림프구성 백혈병 환자에서는 아주 낮은 빈도를 보이고 있다[21]. *FLT3/ITD*는 정상 염색체 핵형을 가진 AML 환자의 19-35%에서 나타나는 가장 빈번한 유전자변이로 생존기간 및 예후를 결정하는 표지자로 유용하다고 보고되고 있다[9-12, 14, 18, 21]. *FLT3*의 또 다른 유전자 이상은 *FLT3* 유전자의 두 번째 tyrosine kinase 영역의 activation loop 내에 있는 835번째 아미노산인 아스파라긴(asparagines, Asp)의 점돌연변이로 성인 AML 환자의 약 7%에서 관찰된다[7]. *FLT3* Asp835 돌연변이는 그 임상적 의의가 알려져 있지 않아 예후와의 연관성은 없는 것으로 보고되고, *FLT3/ITD*와 Asp835 돌연변이는 서로 무관하게 나타난다고 한다[7, 10-12].

본 연구에서 *FLT3/ITD*는 대상 환자 52명 중 15명 환자(28.2%)에서 검출되었는데, 이는 19%에서 32% 범위를 보이는 다른 연구들과 일치하였는데[11-14], 일본인(22%) 보다는 약간 높은 검출 빈도를 보이며[9], 중국인(25.9%)과는 유사한 빈도를 보였다[22]. 국내의 연구를 보면 손 등[19]은 AML 환자의 14.7%에서 *FLT3/ITD*가 검출된다고 하였고, 장 등[18]은 19.0%의 검출률을 보고하였는데, 본 연구에서는 *FLT3/ITD*가 28.8%에서 검출되어 이들 보다 높은 양성률을 보였는데, 이는 검사방법에 따른 예민도의 차이로 여겨진다. 특히 본 연구결과에서 보이는 *FLT3/ITD*의 야생형과 변이형의 비가 0.16 같이 아주 적은 경우는 방법에 따라 검출하지 못 할 수도 있다고 여겨진다. *FLT3/ITD* 결과와 혈액학적 검사 등을 비교한 결과 대부분의 다른 연구에서처럼 진단 당시에 백혈구 수가 높은 경우와 골수아세포 비율이 높은 경우에 *FLT3/ITD* 검출 빈도가 높았다. 그러나 장 등[18]은 백혈구 수에 따라 *FLT3* 유전자변이의 검출은 차이가 나지 않았다고 하였다.

FAB 아형별로 *FLT3/ITD* 검출률을 조사한 연구에서 보면, 각 아형별로 그 빈도가 동일하지 않았으며, 다른 아형보다는 FAB M3와 M5에서 높게 검출되었고, M3보다는 M3v, M5a보다는 M5b에서 훨씬 검출률이 높았다[12, 23]. M2, M1, 또는 M6 아형 등은 연구자마다 순서의 차이는 있었지만 비교적 낮게 검출되었다[12, 16, 22, 24]. *FLT3* 유전자변이는 M4, 또는 M5 등의 단핵구계열의 백혈병에서 빈도가 높게 나타나는데, 이는 단핵구가 분화할 때 *FLT3*는 지속적으로 발현되고, CD34 양성세포가 단핵구로 분화하는데 *FLT3-L*가 함께 관여하는 것으로 보아 *FLT3*의 구성적(constitutive) 활성이 단핵구분화에 관여한다고 하였다.

Thiede 등[12]은 M5의 약 40%에서 *FLT3/ITD*가 관찰된다고 하였고, 장 등[18]은 M4/M5의 약 30%에서 검출된다고 하였고, 본 연구에서도 M3의 경우 11명 중에서 5명이 검출되어 평균보다 높았으며 M5의 경우 2명 중에 1명이 검출되었다.

AML 환자는 염색체 검사 결과에 따라 예후가 양호한 군과 불량한 군으로 구분할 수 있는데, AML 환자의 약 45%에서는 염색체가 정상으로 나와 예후를 추정할 수 없다. 염색체결과에 따른 *FLT3/ITD* 검출률을 조사한 연구를 보면 정상 염색체 핵형을 가진 환자들의 38.6%에서 *FLT3/ITD*가 검출되었고, t(15:17)을 가진 경우는 35.3%로 높게 검출되었지만, t(8:21), inv(6) 같은 비교적 예후가 좋은 군에서는 아주 낮게 검출되었으며[12, 13, 23], -5, -7, del(5), 또는 복잡한 염색체 이상을 가진 예후가 불량한 군에서는 *FLT3/ITD* 검출은 낮았다[12, 13, 23]. 장 등[18]의 연구에서도 M3 아형을 제외한 정상 염색체 핵형을 가진 AML 환자군에서 전체생존기간과 무병생존기간이 *FLT3/ITD* 검출에 따라 유의한 차이를 보인다고 하였다. 본 연구에서도 정상 염색체 핵형을 가진 18명 중에 7명(38.9)에서, t(15:17)을 가진 7명 중에 2명(28.6%)에서 *FLT3/ITD*가 검출되었고, 복잡한 염색체 이상을 가진 환자에서도 *FLT3/ITD*가 검출되어 다른 연구들과 비슷한 결과를 보였다.

일반적으로 *FLT3/ITD* 변이는 AML 환자의 완전관해에는 영향을 미치지 않는다고 하였는데[9, 11, 12, 23, 25], 본 연구와 장 등[18]의 연구에서도 일치하는 결과를 보였다. 그러나 영국의 Roombouts 등[14]의 보고에서는 *FLT3/ITD*가 검출되는 환자군에서 완전관해율이 의미있게 짧다고 하였다. AML 환자의 장기적인 치료결과와 연관성을 살펴보면 FAB M3 아형을 제외하고는 전체생존기간, 무병생존기간에 대해 독립적으로 나쁜 예후인자로 작용하며, 특히 정상 염색체 핵형을 가지는 군에서 생존기간, 무병생존기간에 강력한 영향력을 가진다고 하였다[11, 13, 26, 27]. 장 등[18]은 *FLT3* 유전자 변이의 존재 유무에 따라 전체 생존율과 무병 생존율이 유의하게 차이를 보인다고 하였지만, 본 연구에서는 *FLT3/ITD* 양성 환자들에서 전체생존기간은 유의하게 짧았고, 무병생존기간에는 별 차이를 보이지 않았는데, 이는 대상 환자의 수가 적고 일부 환자에서는 추적기간이 짧아 차이를 보인 것으로 생각된다.

Schnittger 등[23]은 치료 후에 추적 관찰하였던 34명의 환자에서 31명은 *FLT3/ITD*가 유일하게 이용할 수 있는 표지자였고, *FLT3/ITD* 유무와 임상 경과, 염색체검사, FISH와 PCR 결과가 일치하였으며, 4명의 환자에서 임상적으로 재발 2-3개월 전에 재발을 예견하여 AML 환자의 추적 검사에 유용하다고 하였다. Cloos 등[28]은 진단 당시와 재발된 검체를 이용하여 재발률을 조사하였는데, *FLT3/ITD* 검출된 경우 재발률이 훨씬 높았고 재발되는 기간이 짧았으며, 재발된 14명에서 4명은 *FLT3/ITD*가 사라졌고, 5명에서는 새로이 나타났으며, 5명에서는 *FLT3/ITD*의 길이가 변했다고 하였다. 손 등[19]은 진단 당시에는 *FLT3/ITD*가 14.7%, 재발 시에는 13.2% 검출되었고, 진단 시에 검출된

*FLT3/ITD*가 재발 시에도 유지되는 경우가 많았고, 일부에서만 새로이 검출되거나 사라지므로 AML의 재발에 *FLT3* 유전자 변이의 역할이 적을 것이라고 하였다. AML의 재발과 추적관찰에서의 *FLT3/ITD*의 역할에 대한 추가적인 연구가 필요하리라 여겨진다.

본 연구에서는 대상 환자의 추적관찰이 짧아 치료와 예후에 관련된 자세한 분석은 하지 못하였지만, *FLT3/ITD*는 성인 AML 환자에서 예후인자로서 가치가 예견되었고, 전기영동법을 사용한 국내의 다른 보고들보다 *FLT3/ITD* 검출률이 높았으므로 보다 예민도가 높은 방법으로 검출을 시도하고 이를 치료의 추적관찰로 사용한다면 AML 환자 치료방향에 도움이 되리라 여겨진다.

요 약

배경 : *fms-like tyrosine kinase (FLT3)*는 class III tyrosine kinase 수용체의 일종으로 정상적으로 조혈모세포에 선택적으로 발현되어 조혈모세포의 증식, 분화와 생존에 관여한다. *FLT3* 유전자의 Internal tandem duplication (*FLT3/ITD*)은 급성 골수성 백혈병(acute myelogenous leukemia, AML) 환자의 예후와는 밀접한 관련성이 있다고 알려져 있다. 우리나라의 성인 AML 환자에서 *FLT3/ITD*의 빈도와 예후인자로서의 가치를 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

방법 : *de novo* AML 환자로 진단된 52명을 대상으로 하였다. *FLT3* 유전자의 exon 14과 15 부위를 선택하였고, 5'-시발체에 6-FAM-형광색소를 부착하여 PCR을 시행하였다. PCR 산물은 3730XL DNA 분석기(Applied Biosystems, USA)와 GeneMapper Software ver. 3.7를 이용하여 분석하였다.

결과 : 52명의 AML 환자 중에서 15명(28.8%)에서 *FLT3/ITD*가 검출되었다. *FLT3/ITD* 검출빈도는 말초혈액에서 총백혈구 수가 높을수록($P=0.002$), 골수에서 아세포 수가 많을수록($P=0.036$) 의미있게 높았다. *FLT3/ITD*는 염색체 이상을 가지고 있는 환자(25명 중 3명)보다 정상 염색체 핵형을 가진 환자(18명 중 7명)에서 더 흔하게 검출되었고, t(15:17)를 보이는 환자에서도 높은 빈도로 검출되었다(7명 중 2명). 또한 *FLT3/ITD*는 전체생존기간과 의미있는 연관성을 보였다($P=0.042$).

결론 : 본 연구의 결과를 보면 *FLT3/ITD*는 성인 AML 환자에서 흔하게 보이는 유전자 이상이며, 비록 대상 환자 수는 적었지만 *FLT3/ITD*는 성인 AML 환자에서 예후인자로서의 가치가 있는 것으로 생각되었다.

참고문헌

1. McKenna HJ, Stocking KL, Miller RE, Brasel K, De Smedt T, Maraskovsky E, et al. Mice lacking *flt3* ligand have deficient hematopo-

- iesis affecting hematopoietic progenitor cells, dendritic cells, and natural killer cells. *Blood* 2000;95:3489-97.
2. Lyman SD and Jacobsen SE. c-kit ligand and Flt3 ligand: stem/progenitor cell factors with overlapping yet distinct activities. *Blood* 1998;91:1101-34.
 3. Hannum C, Culpepper J, Campbell D, McClanahan T, Zurawski S, Bazan JF, et al. Ligand for FLT3/FLK2 receptor tyrosine kinase regulates growth of haematopoietic stem cells and is encoded by variant RNAs. *Nature* 1994;368:643-8.
 4. Weiss A and Schlessinger J. Switching signals on or off by receptor dimerization. *Cell* 1998;94:277-80.
 5. Kiyoi H, Towatari M, Yokota S, Hamaguchi M, Ohno R, Saito H, et al. Internal tandem duplication of the FLT3 gene is a novel modality of elongation mutation which causes constitutive activation of the product. *Leukemia* 1998;12:1333-7.
 6. Hayakawa F, Towatari M, Kiyoi H, Tanimoto M, Kitamura T, Saito H, et al. Tandem-duplicated Flt3 constitutively activates STAT5 and MAP kinase and introduces autonomous cell growth in IL-3-dependent cell lines. *Oncogene* 2000;19:624-31.
 7. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y, Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S, et al. Activating mutation of D835 within the activation loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood* 2001;97:2434-9.
 8. Fenski R, Flesch K, Serve S, Mizuki M, Oelmann E, Kratz-Albers K, et al. Constitutive activation of FLT3 in acute myeloid leukaemia and its consequences for growth of 32D cells. *Br J Haematol* 2000;108:322-30.
 9. Kiyoi H, Naoe T, Nakano Y, Yokota S, Minami S, Miyawaki S, et al. Prognostic implication of FLT3 and N-RAS gene mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* 1999;93:3074-80.
 10. Abu-Duhier FM, Goodeve AC, Wilson GA, Gari MA, Peake IR, Rees DC, et al. FLT3 internal tandem duplication mutations in adult acute myeloid leukaemia define a high-risk group. *Br J Haematol* 2000;111:190-5.
 11. Frohling S, Schlenk RF, Breittruck J, Benner A, Kreitmeier S, Tobis K, et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood* 2002;100:4372-80.
 12. Thiede C, Studel C, Mohr B, Schaich M, Schakel U, Platzbecker U, et al. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood* 2002;99:4326-35.
 13. Kottaridis PD, Gale RE, Frew ME, Harrison G, Langabeer SE, Belton AA, et al. The presence of a FLT3 internal tandem duplication in patients with acute myeloid leukemia (AML) adds important prognostic information to cytogenetic risk group and response to the first cycle of chemotherapy: analysis of 854 patients from the United Kingdom Medical Research Council AML 10 and 12 trials. *Blood* 2001;98:1752-9.
 14. Rombouts WJ, Blokland I, Lowenberg B, Ploemacher RE. Biological characteristics and prognosis of adult acute myeloid leukemia with internal tandem duplications in the Flt3 gene. *Leukemia* 2000;14:675-83.
 15. Meshinchi S, Woods WG, Stirewalt DL, Sweetser DA, Buckley JD, Tjoa TK, et al. Prevalence and prognostic significance of Flt3 internal tandem duplication in pediatric acute myeloid leukemia. *Blood* 2001;97:89-94.
 16. Zwaan CM, Meshinchi S, Radich JP, Veerman AJ, Huisman DR, Munske L, et al. FLT3 internal tandem duplication in 234 children with acute myeloid leukemia: prognostic significance and relation to cellular drug resistance. *Blood* 2003;102:2387-94.
 17. Yoo SJ, Shim EH, Park CJ, Chi HS. The frequency and clinical significance of FLT3 gene mutation in acute promyelocytic leukemia. *Korean J Lab Med* 2003;23(S1):174. (유수진, 심은희, 박찬정, 지현숙. 급성 전골수성 백혈병 환자에서 FLT3 유전자 변이의 빈도 및 임상적 의미. 대한진단검사의학회지 2003;23(부록1):174.)
 18. Chang SH, Lee NY, Kim DH, Sohn SK, Suh JS. FLT3 Gene mutations as a prognostic factor for acute myeloid leukemia. *Korean J Lab Med* 2006;26:233-40. (장순희, 이난영, 김동환, 손상균, 서장수. 급성골수성백혈병의 예후적 인자로서 FLT3 유전자 변이. 대한진단검사의학회지 2006;26:233-40.)
 19. Sohn YH, Chi HS, Joo MY, Huh HJ, Jang SS, Park CJ. Investigation of Correlation of the recurrence of acute myelogenous leukemia and FLT3 mutation. *Korean J Lab Med* 2004;24(S2):402. (손용학, 지현숙, 주미영, 허희진, 장성수, 박찬정. 급성골수성백혈병의 재발과 FLT3 돌연변이의 상관성조사. 대한진단검사의학회지 2004;24(부록2): 402.)
 20. Agnes F, Shamoon B, Dina C, Rosnet O, Birnbaum D, Galibert F. Genomic structure of the downstream part of the human FLT3 gene: exon/intron structure conservation among genes encoding receptor tyrosine kinases (RTK) of subclass III. *Gene* 1994;145:283-8.
 21. Gilliland DG and Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood* 2002;100:1532-42.
 22. Wang L, Lin D, Zhang X, Chen S, Wang M, Wang J. Analysis of FLT3 internal tandem duplication and D835 mutations in Chinese acute leukemia patients. *Leuk Res* 2005;29:1393-8.
 23. Schnittger S, Schoch C, Dugas M, Kern W, Staib P, Wuchter C, et al. Analysis of FLT3 length mutations in 1003 patients with acute myeloid leukemia: correlation to cytogenetics, FAB subtype, and prognosis in the AMLCG study and usefulness as a marker for the detection of minimal residual disease. *Blood* 2002;100:59-66.
 24. Boissel N, Renneville A, Biggio V, Philippe N, Thomas X, Cayuela

- JM, et al. Prevalence, clinical profile, and prognosis of NPM mutations in AML with normal karyotype. *Blood* 2005;106:3618-20.
25. Boissel N, Cayuela JM, Preudhomme C, Thomas X, Gardel N, Fund X, et al. Prognostic significance of FLT3 internal tandem repeat in patients with de novo acute myeloid leukemia treated with reinforced courses of chemotherapy. *Leukemia* 2002;16:1699-704.
26. Rombouts WJ, Martens AC, Ploemacher RE. Identification of variables determining the engraftment potential of human acute myeloid leukemia in the immunodeficient NOD/SCID human chimera model. *Leukemia* 2000;14:889-97.
27. Kainz B, Heintel D, Marculescu R, Schwarzinger I, Sperr W, Le T, et al. Variable prognostic value of FLT3 internal tandem duplications in patients with de novo AML and a normal karyotype, t(15;17), t(8;21) or inv(16). *Hematol J* 2002;3:283-9.
28. Cloos J, Goemans BF, Hess CJ, van Oostveen JW, Waisfisz Q, Corthals S, et al. Stability and prognostic influence of FLT3 mutations in paired initial and relapsed AML samples. *Leukemia* 2006;20:1217-20.