

## 망상적혈구 지수 및 미성숙망상적혈구 분획의 소아 빈혈에서의 임상적 의의

성균관대학교 의과대학 강북삼성병원 소아과

서 영 · 정혜림 · 심재원 · 김덕수 · 심정연 · 박문수

### Clinical Significance of Immature Reticulocyte Fraction and Reticulocyte Cellular Indices in Pediatric Anemia Patients

Young Seo, M.D., Hye Lim Jung, M.D., Jae Won Shim, M.D., Deok Su Kim, M.D.  
Jeong Yeon Shim, M.D. and Moon Soo Park, M.D.

Department of Pediatrics, Kangbuk Samsung Hospital,  
Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

**Purpose :** Flow cytometric automated reticulocyte analysis is a superior method to manual reticulocyte counting, with respect to precision and sensitivity. Furthermore, flow cytometric analysis is able to measure immature reticulocyte fraction(IRF) and reticulocyte cellular indices(RCI: cell hemoglobin content:CHr, mean cell volume:MCVr, cell hemoglobin concentration mean:CHCMr, distribytion width:RDWr, HDWr, CHDW<sub>r</sub>). In this study, we investigated the mean values and clinical significances of IRF and RCI in healthy children and pediatric anemia patients.

**Methods :** IRF and RCI were measured with an automated blood cell analyzer, ADVIA 120(Bayer, USA) using oxazine 750 dye, in 57 healthy children and 61 children with anemia. The anemia group consisted of 27 iron deficiency anemia(IDA) patients and 34 patients with anemia associated with acute infection(AAI). We compared the mean values of IRF and RCI in the control group classified according to age, between anemia groups and the control group, and between the IDA group and the AAI group.

**Results :** For the normal control group, the mean values of IRF, CHr, MCVr and HDWr were higher in neonates when compared to older children. The mean values of IRF and RDWr were significantly higher, and the mean values of CHr and CHCMr were significantly lower in the IDA group when compared to the control group. The mean value of IRF was significantly higher, and the mean value of CHDW<sub>r</sub> was significantly lower in the AAI group when compared to the control group. The mean values of IRF, CHr and CHCMr were significantly lower in the IDA group when compared to the AAI group.

**Conclusion :** We could determine the normal mean values of IRF and RCI in healthy children classified according to age for understanding of hematopoietic response differences according to age. The evaluation of IRF and RCI by automated reticulocyte analyzer seemed to be accurate and clinically useful for the early diagnosis of anemia and the differentiation of IDA from AAI. (**Korean J Pediatr** 2005;48:284-291)

**Key Words :** Immature reticulocyte fraction, Reticulocyte cellular indices, Iron deficiency anemia. Anemia of acute infection

### 서 론

접수 : 2004년 9월 24일, 승인 : 2004년 10월 15일  
책임저자 : 정혜림, 성균관대 강북삼성병원 소아과  
Correspondence : Hye Lim Jung, M.D.

Tel : 02)2001-2200, 2528 Fax : 02)2001-2199  
E-mail : jungped@samsung.co.kr

최근에 망상적혈구내 RNA를 선택적으로 염색 후 RNA 함량에 비례하는 신호를 측정하는 유세포측정기(flow-cytometry)를 이용한 자동화혈구계산기(automated blood cell counter)의 발

달로 말초혈에서 망상적혈구수 뿐 아니라 망상적혈구지수(reticulocyte cellular index, RCI)와 망상적혈구의 성숙 정도(reticulocyte maturity)를 정확하고 신속하게 분석할 수 있게 되었다<sup>1)</sup>. 즉, 평균망상구세포용적(mean cell volume, MCVr), 평균망상구혈색소농도(cell hemoglobin concentration mean, CHCMr), 망상구혈색소함량(cell hemoglobin content, CHr)과 각각의 분포폭(distribution width) 인 망상구적혈구 분포폭(RDWr), 망상구혈색소분포폭(HDWr) 및 망상구혈색소함량분포폭(CHDWr)을 포함하는 망상적혈구지수와, 형광물질의 저강도 영역(low-fluorescence intensity region, LFR), 중강도영역(middle-fluorescence intensity region, MFR), 고강도영역(high-fluorescence intensity region, HFR) 내의 성숙 정도에 따라 분류된 망상적혈구분획을 산출할 수 있게 된 것이다<sup>2)</sup>. HFR은 가장 미성숙한 망상적혈구를, MFR은 미성숙한 망상적혈구를, LFR은 성숙한 망상적혈구를 의미하며, HFR과 MFR 망상적혈구 분획의 합을 미성숙망상적혈구분획(immature reticulocyte fraction, IRF)으로 정의한다<sup>3)</sup>.

RCI는 골수의 효과적인 적혈구조혈기능을 실시간 반영하는 예민한 지표로서 특히 최근 48시간 동안 골수에서 조혈과 조혈을 위하여 필요한 철분간의 균형이 잘 이루어지고 있는지를 나타내므로 유전자재조합 인적혈구 생성인자(recombinant human erythropoietin, rHuEPO)를 투여 받는 만성신부전증환자에서 철결핍상태의 모니터링 및 철결핍성빈혈의 조기 진단에 유용하게 사용될 수 있다<sup>4,5)</sup>. 체내에 철분이 부족해지면 가장 먼저 저장철이 감소되어 고갈되게 되고 적혈구조혈이 영향을 받아 혈색소 함량이 적은 망상적혈구가 만들어지게 되며 새로 형성된 망상적혈구내 혈색소의 양을 반영하는 CHr의 점차적인 저하가 나타나므로 CHr을 측정함으로써 혈색소치 및 적혈구지수의 감소가 나타나기 전에 철결핍 상태를 조기 진단할 수 있다<sup>6,7)</sup>.

IRF는 골수조혈의 변화를 가장 먼저 반영하는 예민한 지표이며 임상적으로 조혈모세포이식 후 생착이나 항암화학요법 후 골수회복을 조기에 알아보는 데에 유용하다<sup>8)</sup>. 즉 골수 무형성 시에 IRF는 “0”에 가깝게 나타나고 골수조혈기능이 다시 증가할 때에 가장 먼저 RNA 함량이 높은 망상적혈구가 나타나므로 IRF의 증가로 가장 먼저 반영된다.

이와 같이 RCI와 IRF는 골수의 효과적 적혈구조혈기능을 평가하고 빈혈의 병태생리학적 변화를 이해하며 빈혈의 감별진단과 치료에 관한 반응을 추적하는 데에 매우 유용하고 중요한 지표로서<sup>3)</sup> 자동화혈구계산기를 이용하여 신속하고 간편하게 구해질 수 있으나 실제로 임상에서 사용도가 매우 떨어져 있는 상태이다. 또한 성인과 달리 소아, 특히 신생아 및 영유아기에는 연령에 따른 혈액학적 변동이 심하므로 RCI와 IRF의 연령별 차이가 있을 수 있고, 소아 빈혈 중 가장 흔한 빈혈인 철결핍성빈혈 및 철결핍 상태의 조기 진단과 소아 빈혈 중 또 하나의 흔한 빈혈인 급성 감염에 동반된 빈혈과의 감별 진단에 RCI와 IRF가 유용한 지표로 가능성이 높으나 아직 정상 어린이나 소아 빈혈

에서 RCI와 IRF의 연구가 부족한 상태이다. 그러므로 저자들은 정상 소아의 연령군별 RCI와 IRF의 정상치를 구하고, 소아빈혈 중 가장 흔한 원인질환인 철결핍성빈혈과 급성감염에 동반된 빈혈을 포함한 소아빈혈군에서 RCI와 IRF치를 조사하여 소아빈혈의 조기 진단에 도움이 되는지 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

2000년부터 2001년까지 강북삼성병원 소아과에서 빈혈로 진단된 생후 2개월에서 15세 연령의 환자 61명을 대상으로 하였으며, 이중 철결핍성빈혈군이 27명이었고, 급성감염으로 인한 빈혈군이 34명이었다. 급성 감염성 질환은 급성 위장관염과 폐렴이 가장 많았고, 급성인후염, 중이염 순으로 많았다. 대조군은 정상아 57명으로 이중 신생아군은 2004년 1월 한달 동안 강북삼성병원에서 출생한 재태연령 37-42주의 적정체중출생아로서 신체검사서 특이소견을 보이지 않았던 15명을 대상으로 하였고, 정상아군은 2000년부터 2003년까지 강북삼성병원에 건강검진을 위해 내원한 2개월 이상의 소아 중 빈혈이 없었던 42명을 대상으로 하였다. 정상아군은 영유아기에 혈액학적 변동이 심한 점을 고려하여 생후 2개월에서 6개월까지의 영아군, 7개월에서 2세까지의 영유아군, 2세 이후 군으로 분류하였다.

### 2. 빈혈의 진단 기준

빈혈은 입원 시 측정된 혈색소치가 홍<sup>9)</sup>의 한국소아 정상혈색소량의 2표준편차 미만인 경우로 정의하였으며, 생후 4주 미만의 신생아는 혈색소치 13.5 g/dL 미만으로 하였고, 생후 1개월에서 6개월 사이의 영아는 혈색소치 9.5 g/dL 미만으로 하였으며, 생후 6개월에서 2세 사이의 영유아는 혈색소치 10.5 g/dL 미만을 기준으로 하였고, 2세 이상의 소아는 혈색소 11.5 g/dL 미만을 기준으로 하였다. 감염으로 인한 빈혈은 급성감염성 질환이 있으면서 빈혈이 동반되어 있는 경우로 하였고, 철결핍성빈혈은 혈색소치가 진단 기준에 합당하면서 혈청 ferritin 10 ng/mL 미만이거나 MCV 70 fL 이하, MCH 27 pg 이하 및 MCHC 12 ng/mL 이하인 경우로 하였다.

### 3. 방법

망상적혈구의 측정은 EDTA 시험관에 채혈한 후 6시간 이내에 ADVIA 120(Bayer, USA) 자동화혈구계산기를 이용하여 검사하였다. 검사방법은 전혈에 oxazine 750염색시약을 넣어 적혈구내의 빛의 흡수 및 산란 정도를 분석하여 망상적혈구수의 백분율(%) 및 저등도 염색강도 분획(L RETI, low staining-intensity 또는 more mature), 중등도 염색강도 분획(M RETI, medium staining-intensity 또는 intermediate maturation) 및 고등도 염색강도 분획(H RETI, high staining-intensity 또는 most immature) 망상적혈구를 구하였으며 IRF는 미성숙망상적

혈구에 속하는 고등도 염색강도 분획과 중등도 염색강도 분획의 합으로 계산하였다. 또한 같은 자동화혈구계산기를 이용해 RCI인 MCVr, CHr, CHCMr, RDWr, HDWr 및 CHDWr을 측정하였다.

#### 4. 통계학적 분석

본 연구의 통계처리는 SPSS for windows 10.0(SPSS Inc., USA)을 이용하였다. 철결핍성빈혈군과 급성감염성 빈혈군 및 대조군 간의 IRF 및 RCI의 평균치 비교는 ANOVA를 이용하였고, 사후검정은 TUKEY method를 사용하였다. 상관관계는 Pearson 상관계수를 사용하였으며  $P$ 값이 0.05 미만일 때를 유의한 것으로 판단하였다. 빈혈군과 비교한 대조군은 신생아를 제외한 2개월 이상 정상아 42명을 대상으로 하였다.

### 결 과

#### 1. 정상대조군 및 빈혈군의 특징

정상대조군 57명은 남아가 30명(53%)이었고 여아가 27명(47%)이었다. 각 연령군의 성별분포를 보면 신생아군은 남아 6명(40%)과 여아 9명(60%)였고, 2-6개월 영아군은 남아 8명(72%)과 여아 3명(27%)였으며, 7-24개월 영유아군은 남아 7명(64%)과 여아 4명(36%)였고, 2세 이상 소아군은 남아 9명(45%)과 여아 11명(55%)이었다. 철결핍성빈혈군 27명은 남아 18명(67%)과 여아 9명(33%)이었고, 급성감염성빈혈군 33명은 남아 15명(45%)과 여아 18명(55%)이었다.

#### 2. 연령군별 IRF와 RCI의 정상치

대조군의 각 연령군별 IRF 평균치를 보면 신생아군 29.9±12.3%, 2-6개월군 4.2±2.9%, 7-24개월군 3.4±1.4%, 2세 이상군 5.4±2.8%로 신생아군에서 가장 높았다. 대조군의 각 연령군별 RCI의 평균값을 비교해보면 신생아군에서 CHr, MCVr 및 HDWr이 차례대로 34.1±1.5 pg, 115.4±6.9 fL 및 3.2±0.2 g/dL로 다른 연령군에 비해 현저하게 높았으나 CHCMr과 RDWr은 연령군별 차이를 보이지 않았다(Table 1).

#### 3. 빈혈군과 대조군의 IRF와 RCI의 비교

망상적혈구수는 대조군에 비하여 빈혈군에서 높게 측정되었다( $P=0.002$ ). 빈혈군의 IRF와 RCI를 대조군과 비교해보면 빈혈군의 IRF는 11.8±7.8%로 대조군의 4.5±2.7%에 비하여 빈혈군에서 의미있게 높은 수치를 보였고( $P<0.001$ ), CHr과 CHCMr은 빈혈군에서 26.1±3.7 pg과 28.5±2.8 g/dL이고 대조군에서 27.8±2.3 pg과 30.6±1.5 g/dL로서 빈혈군에서 낮게 측정되었다(각각  $P=0.018$ ,  $P<0.001$ ). 그러나 MCVr은 빈혈군에서 92.9±5.5 fL이고 대조군에서 91.8±9.6 fL로 두 군간에 차이를 보이지 않았다( $P>0.05$ ).

#### 4. 철결핍성빈혈군과 대조군의 IRF와 RCI의 비교

망상적혈구수는 철결핍성빈혈군에서 1.4±0.5%, 대조군에서 1.1±0.4%로 철결핍성빈혈군에서 의미있게 높았고( $P=0.013$ ), IRF도 철결핍성빈혈군에서 7.0±3.2%로 대조군에 비하여 의미있게 높았다( $P<0.001$ ). RCI 중 CHr과 CHCMr은 철결핍성빈혈군에서 24.9±4.1 pg과 27.4±2.7 g/dL로서 대조군에 비하여 낮게 측정되었고(각각  $P=0.004$ ,  $P<0.001$ ), RDWr은 철결핍성빈혈군에서 12.6±2.7%이고 대조군에서 11.8±2.1%로서 철결핍성빈혈군에서 높았으며( $P<0.001$ ), MCVr과 HDWr은 철결핍성빈혈군에서 91.0±10.0 fL와 2.7±0.6 g/dL이고 대조군에서 92.9±5.5 fL와 2.6±0.4 g/dL로 두 군간에 큰 차이를 보이지 않았다(Table 2).

#### 5. 급성감염성빈혈군과 대조군의 IRF와 RCI의 비교

급성감염성빈혈군의 망상적혈구수는 1.7±1.0%로 대조군에 비하여 의미있게 높았고( $P=0.007$ ), IRF도 급성감염성빈혈군에서 10.7±4.7%로 대조군에 비하여 의미있게 높았다( $P<0.001$ ). RCI 중 CHDWr만 급성감염성빈혈군에서 3.2±0.5 pg이고 대조군에서 3.8±0.8 pg으로 차이를 보였고( $P=0.003$ ), CHr, MCVr, CHCMr, RDWr 및 HDWr은 두 군간에 차이를 보이지 않았다(Table 2).

#### 6. 철결핍성빈혈군과 급성감염성빈혈군의 IRF와 RCI의 비교

평균연령, 혈색소치 및 망상적혈구수는 두 군간에 차이가 없었다. IRF은 철결핍성빈혈군에 비하여 급성감염성빈혈군에서 의미있게 높았다( $P<0.001$ ). RCI 중 CHr과 CHCMr은 급성감염성

**Table 1.** Immature Reticulocyte Fraction and Reticulocyte Cellular Indices in Control Group, According to Age

	<2 month	2-6 m	7-24 m	>24 mo
No.	15	10	11	20
Reticulocyte(%)	3.6±1.4	1.3±0.4	0.9±0.3	1.1±0.6
L-reti(%)	70.1±12.3	95.8±2.9	96.6±1.4	94.6±2.8
M-reti(%)	19.9±6.5	3.5±2.0	2.8±1.3	4.2±2.3
H-reti(%)	9.9±6.5	0.8±1.8	0.6±0.5	1.2±1.3
IRF(%)	29.9±12.3	4.2±2.9	3.4±1.4	5.4±2.8
CHr(pg)	34.1±1.5	26.4±2.2	27.5±0.8	29.1±1.9
MCVr(fL)	115.4±6.9	95.0±5.0	91.5±6.5	92.5±5.0
CHCMr(g/dL)	29.7±0.8	29.9±1.4	30.4±0.4	31.2±1.4
RDWr(%)	10.9±0.8	11.0±2.3	11.6±1.7	12.3±2.1
HDWr(g/dL)	3.2±0.2	2.4±0.5	2.8±0.5	2.7±0.3
CHDWr(pg)	4.2±0.4	3.9±0.6	3.6±0.4	3.7±0.9

Values are mean±standard deviation

IRF : immature reticulocyte fraction, L-reti : low-fluorescence intensity region, M-reti : middle-fluorescence intensity region, H-reti : high-fluorescence intensity region, CHr : cell hemoglobin content, MCVr : mean cell volume, CHCMr : cell hemoglobin concentration mean, RDWr, HDWr, CHDWr : distribution widths of CHr, MCVr, CHCMr

**Table 2.** Comparison of Immature Reticulocyte Fraction and Reticulocyte Cellular Indices between Anemia and Control Group

	Control(n=42)	IDA(n=27)	Acute infection(n=34)	P value
Age(months)	34.9±34.1	41.7±50.7	33.1±22.8	NS
Hgb(g/dL)	12.1±0.6 <sup>*, †</sup>	9.1±1.7 <sup>*</sup>	9.9±1.4 <sup>†</sup>	<0.001 <sup>*</sup> / <sup>†</sup>
HCT(%)	35.9±1.8 <sup>*, †</sup>	28.9±4.2 <sup>*</sup>	28.9±4.2 <sup>†</sup>	<0.001 <sup>*</sup> / <sup>†</sup>
Reticulocyte(%)	1.1±0.4 <sup>*, †</sup>	1.4±0.5	1.7±1.0 <sup>†</sup>	0.013 <sup>*</sup> /0.007 <sup>†</sup>
L-reti(%)	95.5±2.7 <sup>*, †</sup>	93.0±3.2	89.3±4.7 <sup>†</sup>	0.001 <sup>*</sup> / <sup>†</sup>
M-reti(%)	3.6±2.1 <sup>*, †</sup>	5.9±2.5	9.2±4.2 <sup>†</sup>	<0.001 <sup>*</sup> / <sup>†</sup>
H-reti(%)	0.9±1.3 <sup>†</sup>	1.1±1.5	1.5±1.1 <sup>†</sup>	NS/0.046 <sup>†</sup>
IRF(%)	4.5±2.7 <sup>*, †</sup>	7.0±3.2	10.7±4.7 <sup>†</sup>	0.001 <sup>*</sup> / <sup>†</sup>
CHr(pg)	27.8±2.4 <sup>*</sup>	24.9±4.1 <sup>*</sup>	27.4±2.6	0.004 <sup>*</sup> /NS
MCVr(fL)	92.9±5.5	90.8±9.9	92.6±9.4	NS/NS
CHCMr(g/dL)	30.6±1.5 <sup>*</sup>	27.4±2.7 <sup>*</sup>	29.8±2.3	<0.001 <sup>*</sup> /NS
RDWr(%)	11.8±2.1 <sup>*</sup>	12.6±4.7 <sup>*</sup>	11.5±2.0	<0.001 <sup>*</sup> /NS
HDWr(g/dL)	2.6±0.4	2.7±0.6	2.7±2.5	NS/NS
CHDWr(pg)	3.8±0.7 <sup>*, †</sup>	3.1±0.6 <sup>*</sup>	3.2±0.5 <sup>†</sup>	<0.001 <sup>*</sup> /0.003 <sup>†</sup>

Values are mean±standard deviation

NS : Not significant, IRF : immature reticulocyte fraction, L-reti : low-fluorescence intensity region, M-reti : middle-fluorescence intensity region, H-reti : high-fluorescence intensity region, CHr : cell hemoglobin content, MCVr : mean cell volume, CHCMr : cell hemoglobin concentration mean, RDWr, HDWr, CHDWr : distribytion widths of CHr, MCVr, CHCMr

**Table 3.** Comparison of Immature Reticulocyte Fraction and Reticulocyte Cellular Indices between Iron Deficiency Anemia and Anemia of Acute Infection

	IDA(n=27)	Acute infection(n=42)	P value
Age(months)	41.7±50.7	33.1±22.8	NS <sup>*</sup>
Hgb(g/dL)	9.1±1.7	9.9±1.4	NS <sup>*</sup>
HCT(%)	28.9±4.2	30.2±4.0	NS <sup>*</sup>
Reticulocyte(%)	1.4±0.5	1.7±1.0	NS <sup>*</sup>
L-reti(%)	89.3±4.7	93.0±3.2	0.002
M-reti(%)	9.1±4.2	5.9±2.5	0.001
H-reti(%)	1.5±1.2	1.1±1.5	NS <sup>*</sup>
IRF(%)	7.0±3.2	10.7±4.7	<0.001
CHr(pg)	24.9±4.1	27.4±2.6	0.018
MCVr(fL)	90.8±9.9	92.6±9.4	NS <sup>*</sup>
CHCMr(g/dL)	27.4±2.7	29.8±2.3	0.002
RDWr(%)	12.6±4.7	11.5±2.0	NS <sup>*</sup>
HDWr(g/dL)	2.7±0.6	2.7±2.5	NS <sup>*</sup>
CHDWr(pg)	3.1±0.6	3.2±0.5	NS <sup>*</sup>

Values are mean±standard deviation

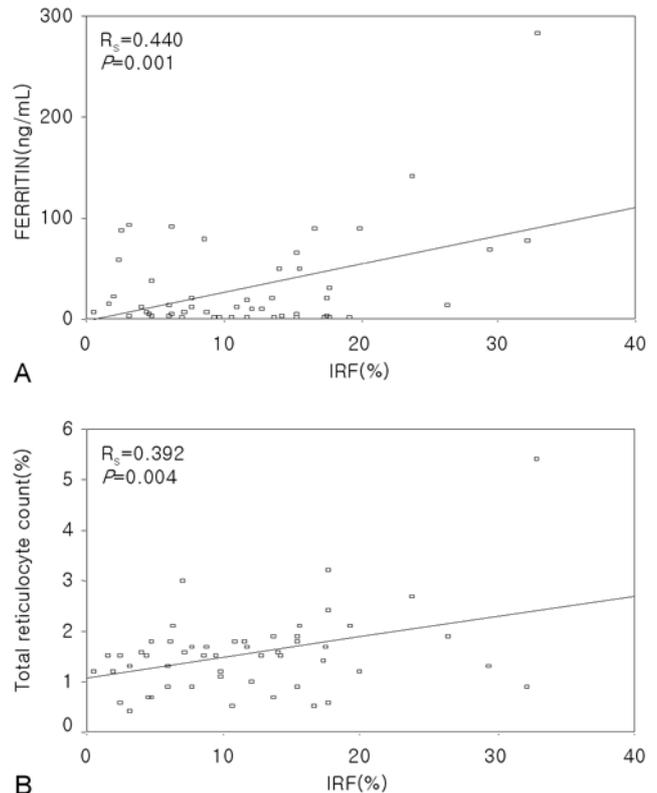
\*NS : Not significant

IRF : immature reticulocyte fraction, L-reti : low-fluorescence intensity region, M-reti : middle-fluorescence intensity region, H-reti : high-fluorescence intensity region, CHr : cell hemoglobin content, MCVr : mean cell volume, CHCMr : cell hemoglobin concentration mean, RDWr, HDWr, CHDWr : distribytion widths of CHr, MCVr, CHCMr

빈혈군에 비하여 철결핍성빈혈군에서 유의있게 낮았으나(각각 P=0.018, P=0.002), MCVr, RDWr 및 HDWr은 두 군간에 차이를 보이지 않았다(Table 3).

**7. IRF와 혈청 ferritin, 망상적혈구수와의 상관관계 및 CHr과 TIBC, 혈색소, 혈색소용적과의 상관관계**

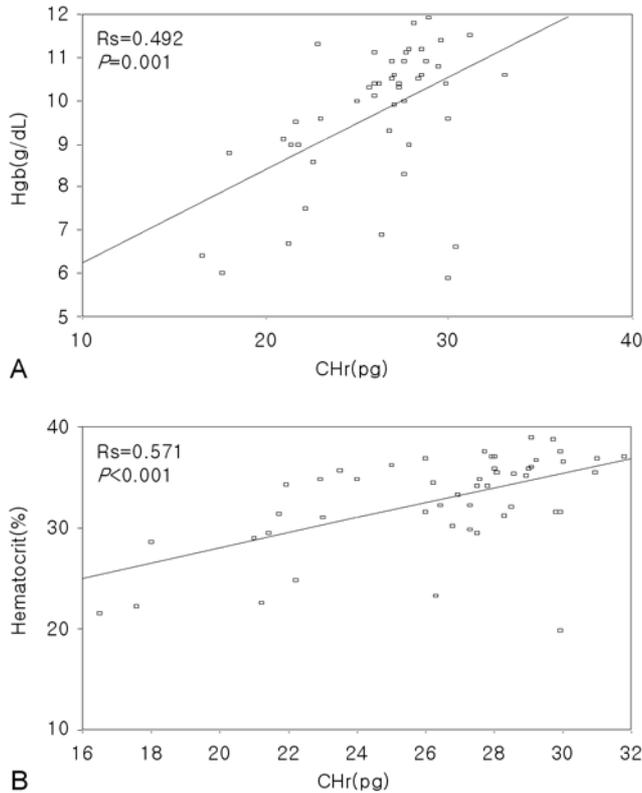
IRF는 혈청 ferritin 농도와 양의 상관관계를 보였고( $r_s=0.440$ ,



**Fig. 1.** Correlation between immature reticulocyte fraction (IRF) and serum ferritin levels(A) and between IRF and total reticulocyte counts in anemia group(B). There were significant positive correlations between them.

P=0.001), 망상적혈구수와의 양의 상관관계를 보였다( $r_s=0.392$ , P=0.004)(Fig. 1). 또한, CHr은 혈색소치 및 혈색소용적과는 양의 상관관계를 보였고( $r_s=0.492$ , P=0.001,  $r_s=0.571$ , P<0.001)

서 영 외 5인 : 망상적혈구 지수 및 미성숙망상적혈구 분획의 소아 빈혈에서의 임상적 의의



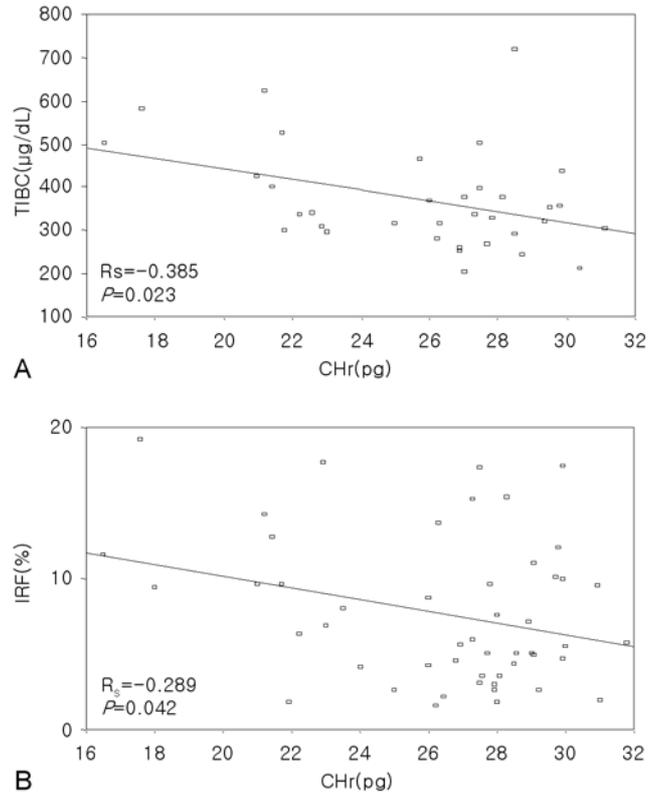
**Fig. 2.** Correlation between Cell hemoglobin content(CHr) and serum hemoglobin levels(A) and between CHr and serum hematocrit levels(B) in anemia group. They showed significant positive correlations between them.

(Fig. 2), TIBC와 음의 상관관계를 보였다( $r_s=-0.385$ ,  $P=0.023$ ) (Fig. 3A). 그리고 IRF와 CHr은 음의 상관관계를 보였다( $r_s=-0.289$ ,  $P=0.042$ )(Fig. 3B).

### 고 찰

망상적혈구(reticulocyte)는 골수의 유핵전구세포인 적혈모구에서 새로 생성된 미성숙 적혈구로서 골수에서 평균 3일 및 말초혈액에서 1일간의 성숙기간을 거친 다음 성숙적혈구로 분화되며, 분화하는 과정에서 세포질에 남아 있던 리보솜 RNA를 점차 소실해 간다<sup>10)</sup>. 1940년대에 초생체 염색으로 RNA를 염색하여 광학현미경으로 처음 그물 모양의 망상적혈구를 측정하기 시작하였고<sup>11)</sup>, 1980년대에 들어서면서 자동화혈구계산기를 통하여 좀더 신속하고 정확하게 망상적혈구를 측정할 수 있게 되었으며, 1990년대 후반에 들어서면서 RNA와 선택적으로 결합하는 형광색소를 사용하여 세포 내 RNA 함량과 비례적으로 방출되는 신호를 유세포측정기로 포착하는 자동화 망상적혈구계산기를 통하여 망상적혈구의 성숙도를 측정하고 분류할 수 있게 되었다<sup>12)</sup>.

자동화혈구 계산기는 망상적혈구수 측정에 있어서 과거 수기로 측정하는 방법에 비하여 짧은 시간 내에 많은 혈액 검체를



**Fig. 3.** Correlation between Cell hemoglobin content(CHr) and Total iron binding capacity(TIBC)(A) and between CHr and Immature reticulocyte fraction(IRF)(B) in anemia group. There were significant negative correlations between them.

신속하게 분석할 수 있을 뿐 아니라 정밀도와 예민도가 높다는 장점이 있다<sup>13)</sup>. 즉 보다 많은 적혈구를 분석하므로 통계적인 오차를 줄여 높은 정밀도를 나타낼 뿐 아니라, 낮은 농도의 RNA를 함유한 성숙 망상적혈구를 간과할 수 있는 현미경검사에 비하여 미성숙부터 성숙 망상적혈구까지 분석이 가능하므로 높은 예민도를 나타내게 된다. 또한 IRF와 RCI를 측정함으로써 빈혈의 조기진단 및 감별진단, 골수이식이나 화학요법 후의 골수회복 정도와 철분제 투여 후 골수의 효과적 적혈구조혈기능을 평가할 수 있도록 한다. 저자들이 사용한 ADVIA 120은 망상적혈구 RNA를 핵산염색시약인 oxazine 750으로 염색하여 자동 측정하는 자동화혈구계산기로서 미성숙망상적혈구는 더욱 많은 RNA를 함유하여 더 많은 oxazine 750과 결합함으로써 성숙 적혈구보다 더 많은 빛을 흡수하는 데에 원리를 두고 있다<sup>14)</sup>. 이에 따라 망상적혈구를 성숙정도에 따라 저등도 염색강도, 중등도 염색강도, 고등도 염색강도 영역의 세 분획으로 분류할 수 있다. 또한 망상적혈구의 크기와 혈색소 함량과 농도는 광선산란법에 의해 측정하며, CHr, MCVr, CHCMr, RDWr, HDWr 및 CHDWr 등의 다양한 망상적혈구지수를 측정할 수 있다<sup>1)</sup>.

IRF는 망상적혈구 또는 다핵백혈구보다 조기에 골수 반응을 반영하는 예민한 지표로 알려져 있으며, 골수의 조혈기능이 증가

하면 IRF도 증가하고, 조혈기능이 감소하면 IRF도 감소한다. IRF는 임상적으로 조혈모세포이식 후 생착의 조기판정, 화학요법에 의한 골수억제로부터 회복시작의 판정, 유전자재조합 인적혈구 생성인자, 철분제제, 비타민B12 또는 엽산 투여 후 혈구생성반응의 추적, 성장인자 유발성 CD34+ 세포의 말초혈로의 방출 예측 등을 위해서 사용되고 있다<sup>3, 15)</sup>. 또한 IRF는 빈혈의 원인질환의 감별진단에도 유용하여 Linda 등<sup>2)</sup>은 재생불량성빈혈과 거적모구성빈혈에서는 IRF가 감소하고 백혈병이나 골수이형성증후군처럼 골수대치에 의한 빈혈에서는 IRF가 증가하며 비기능항진증에서는 IRF가 매우 증가한다고 보고하였다.

만성감염에 의한 빈혈시 만성적으로 적혈구생성인자에 의해 골수가 자극되어 IRF가 증가된다는 보고가 있었으며<sup>16)</sup>, Well 등<sup>11)</sup>과 Davis 등<sup>17)</sup>은 철결핍성빈혈에서 망상적혈구 내의 transferrin receptor mRNA의 증가로 미성숙망상적혈구가 증가한다고 하였고, IRF와 총철결합능 및 혈청 페리틴 농도 간에 높은 상관관계를 관찰하였다. 본 연구에서 측정된 2개월 이상 정상대조군의 IRF평균치는 4.5%이었고, 연령별로는 신생아군에서 영아군 이상 정상아에 비해 현저하게 높은 것이 관찰되었으며, 철결핍성빈혈군은 7.0%, 급성감염성빈혈군은 10.7%로 철결핍성빈혈군과 급성감염성빈혈군 모두 정상대조군에 비해 IRF가 의미 있게 증가되어 있었으나, 철결핍성빈혈군에 비하여 급성감염성빈혈군에서 IRF가 의미 있게 높았으므로, 빈혈의 진단과 철결핍성빈혈과 급성감염성빈혈의 감별진단에 유용한 지표로 생각되었다.

신생아기에는 태아혈색소가 급격히 감소되고 점차 성인혈색소로 치환됨에 따라 활발한 혈구생성이 일어나게 되고, 따라서 조혈모세포에서 망상적혈구로의 분화과정이 짧아져 CHR과 MCVr이 증가된 미성숙망상적혈구가 증가하기 때문으로 생각된다. 급성감염성빈혈군에서 철결핍성빈혈군보다 IRF가 증가된 이유에 대해서는 논란이 많으나 염증부위에서의 파괴증가에 의한 적혈구 수명단축, 적혈구생성인자에 대한 골수의 반응저하, 철분의 위장관 흡수저하 및 이용장애 등으로 골수에서 이미 생성되어 있던 미성숙망상적혈구가 말초혈로 방출됨으로써 IRF의 증가를 초래하는 것으로 보고 있다<sup>18, 19)</sup>. 또한 본 연구에서 IRF와 혈청 페리틴 농도 및 망상적혈구수 간에 양의 상관관계를 관찰하였으므로 망상적혈구 성숙도는 골수의 조혈능 및 철분상태에 의하여 영향을 받음을 추측할 수 있었다.

RCI 중 망상적혈구혈색소함량인 CHR은 철결핍상태를 평가하는 가장 민감하고 특이한 지표로서, 철결핍상태의 진단을 위한 가장 적절한 기준값으로 알려져 있다<sup>20)</sup>. 임상적으로 MCV, MCH 및 MCHC가 정상범주에 속하는 철결핍성빈혈 초기에 CHR이 먼저 감소하므로 철결핍성빈혈의 호발연령기인 영유아기 및 청소년기에서 CHR의 측정을 통하여 철결핍상태를 조기 진단하고 철분제제를 투여함으로써 철결핍성빈혈로 진행되는 것을 예방할 수 있다<sup>20)</sup>. 또한 CHR은 염증이나 만성질환 등에 의하여 영향을 받지 않으므로 철결핍성빈혈을 진단하는데 고신적으로 사용되고 있는 혈청 페리틴이나 철 농도보다 정확하다<sup>18)</sup>. 혈청 철 농도는

정상 개개인에서 날짜별, 시간별 변이가 매우 높아 임상적 유용성이 적고 염증, 감염, 수술, 만성 질환의 반응성으로 감소할 수 있어 철결핍성상태의 조기진단에는 용이하지 않은 단점이 있다. 또한 CHR은 투여시 동반되는 철결핍 적혈구생성을 가장 먼저 발견할 수 있는 지표로서 임상적으로 많은 활용도가 예상된다<sup>19)</sup>. 즉, 혈액투석을 받는 만성 신부전증환자에서 유전자 재조합 인적혈구 생성인자 투여시 관찰되는 CHR의 저하는 철결핍 상태의 골수에서 생성된 망상적혈구의 방출을 나타내므로 철분보충의 필요성을 의미한다<sup>5)</sup>. 철분제제 투여 후 치료반응을 평가하는데도 다른 철분관련 표지자보다 조기에 반응하므로<sup>19)</sup> 철분제제 투여 한달 후 혈색소치, 혈청 페리틴 또는 철 농도의 증가를 확인해오던 방법과 비교하여 철분제제 투여 1-2주 후 CHR을 통하여 반응을 확인할 수 있다<sup>20)</sup>. CHR은 효과대비 비용면에서도 다른 지표보다 효율적이고<sup>21)</sup>, 완충시약에서 2시간 정도 안정하게 유지되어 시간이 지날수록 변하는 MCVr이나 CHCMr보다도 유용하다<sup>6)</sup>. 본 연구에서도 CHR은 급성감염빈혈군에서는 대조군과 비교하여 차이를 보이지 않았으나 철결핍성빈혈군에서는 24.9±4.1 pg으로 26 pg 미만이었으며 대조군이나 급성감염빈혈군에 비해 의미 있게 감소되어 있었으므로 철결핍상태의 조기진단과 소아에서 감별이 중요한 철결핍성빈혈과 급성감염빈혈의 감별진단에 유용함을 보여 주었다. 뿐만 아니라 본 연구에서 CHR은 빈혈군에서 기존의 철분제제 투여 후 반응을 평가하기 위한 척도로 사용되었던 TIBC와 음의 상관관계를 보이고 혈색소치 및 적혈구 용적과 양의 상관관계를 보였으므로 철분 투여 후 반응을 추적 평가하는데도 유용하리라 생각된다.

RCI 중 MCVr과 RDWr은 적혈구 생성이 감소하면 감소하고 화학요법, 유전자 재조합 인적혈구 생성인자 치료 또는 골수이식 후 골수회복상태에서 적혈구 생성이 활발하게 일어나면 증가하게 되는데, 이는 조혈모세포에서 망상적혈구로의 분화과정이 짧아져 MCVr이 증가된 스트레스 망상적혈구 생성이 증가하기 때문이다<sup>22)</sup>. D'Onofrio 등<sup>23)</sup>은 골수이식 환자들을 대상으로 한 연구에서 초기에는 골수부전에 따른 MCVr의 점진적 감소를 보이지만, 골수회복이 시작되어 조혈이 활발해지면 MCVr의 급격한 증가를 볼 수 있었다고 보고하였다.

본 연구에서는 정상대조군중 신생아군에서 영아기 이상 연령군에 비해 MCVr과 HDWr의 증가를 관찰할 수 있었으나 CHCMr과 RDWr의 차이는 관찰할 수 없었으며, 이는 신생아기에 다른 연령군에 비하여 균등하게 크기가 크지만 혈색소농도는 균일하지 않는, 즉 혈색소 합성 장애가 있는 미성숙망상적혈구의 생성이 활발하다는 것을 의미한다. 또한 철결핍성빈혈군과 대조군 사이에 CHR, CHCMr 및 RDWr의 차이는 있었으나 MCVr과 HDWr의 차이는 없었고, 철결핍성빈혈군과 급성감염성빈혈군 사이에는 CHR과 CHCMr의 차이는 있었으나 MCVr, RDWr 및 HDWr의 차이는 관찰할 수 없었으므로 철결핍성빈혈의 진단이나 철결핍성빈혈과 급성감염성빈혈의 감별진단에 있어서는 CHR과 CHCMr이 가장 유용한 지표로 생각되었다.

이상의 저자들의 연구결과를 보면 ADVIA 120 자동화혈구계산기를 이용하여 신속 간편하고 정확하게 망상적혈구수뿐 아니라 IRF와 여러 가지 RCI를 측정할 수 있었고, 연령군별 정상표준치 및 그 차이를 보여 주었으며, IRF와 RCI 중 특히 CHr은 철결핍성빈혈의 조기진단 및 철결핍성빈혈과 급성감염성빈혈의 감별진단에 유용한 지표로 이용될 수 있음을 증명하였으나 향후 골수회복가능 평가 및 치료 후 혈액학적 반응을 추적하는 지표로서의 유용성에 대한 더 많은 연구가 필요하며, 임상적으로 더욱 활발히 응용될 수 있어야겠다.

## 요 약

**목적 :** 최근에 개발된 자동화혈구계산기를 이용하여 신속 간편하고 정확하게 IRF와 다양한 RCI 측정이 가능해졌다. 저자들은 정상 소아의 연령군별 RCI와 IRF의 정상치를 구하고, 소아 빈혈 중 가장 흔한 원인질환인 철결핍성빈혈과 급성감염성빈혈을 포함한 소아빈혈군에서 RCI와 IRF치를 조사하여 소아빈혈의 조기진단과 철결핍성빈혈과 급성감염성빈혈의 감별진단에 유용한지를 알아보고자 하였다.

**방법 :** 소아빈혈환자군 61명(급성감염성빈혈 34명, 철결핍성빈혈 28명)과 정상대조군 57명을 대상으로 자동화혈구계산기 ADVIA 120을 이용하여 IRF와 CHr, MCVr, CHCMr, RDWr, HDWr 및 CHDWr를 포함한 RCI를 측정 후 대조군과 빈혈군 및 철결핍성빈혈군과 급성감염성빈혈군간의 평균치를 비교 분석하였다.

### 결 과 :

1) 정상대조군의 각 연령군별 IRF 평균치는 신생아군에서 가장 높았다. 정상대조군의 각 연령군별 RCI의 평균값을 비교해보면 신생아군에서 CHr, MCVr 및 HDWr이 다른 연령군에 비해 높았으나 CHCMr과 RDWr은 연령군별 차이를 보이지 않았다.

2) 빈혈군의 IRF는 정상대조군에 비하여 의미 있게 높았고, CHr과 CHCMr은 빈혈군에서 대조군에 비해 낮게 측정되었다. 그러나 MCVr은 빈혈군과 대조군 사이에 차이를 보이지 않았다.

3) 철결핍성빈혈군의 IRF는 정상대조군에 비하여 의미 있게 높았고, RCI 중 CHr과 CHCMr은 철결핍성빈혈군에서 대조군에 비하여 낮게 측정되었으며, RDWr은 철결핍성빈혈군에서 높았고, MCVr과 HDWr은 두 군간에 차이를 보이지 않았다.

4) 급성감염성빈혈군과 대조군의 IRF와 RCI를 비교해 보면 IRF는 급성감염성빈혈군에서 의미 있게 높았고, RCI 중 CHDWr만 차이를 보였으며, CHr, MCVr, CHCMr, RDWr 및 HDWr은 두 군간에 유의 있는 차이를 보이지 않았다.

5) 철결핍성빈혈군과 급성감염성빈혈군 간에 평균연령, 혈액소치 및 망상적혈구수는 차이가 없었다. IRF는 철결핍성빈혈군에 비하여 급성감염성빈혈군에서 의미 있게 높았고, RCI 중 CHr과 CHCMr은 급성감염성빈혈군에 비하여 철결핍성빈혈군에서 의미 있게 낮았으나, MCVr, RDWr 및 HDWr은 두 군간에 차

이를 보이지 않았다.

**결론 :** 빈혈의 감별진단에 IRF와 RCI가 매우 유용하리라 생각되며 특히 IRF는 급성감염에 의한 빈혈군에서 증가하는 것으로 보아 급성염증에 의한 골수반응이 있음을 생각할 수 있고, 또한 RCI 중 CHr은 빈혈의 감별진단에 아주 유용하고 특히 철결핍성빈혈군의 초기 진단에 유용하나 이에 대해 더욱 많은 연구가 필요하리라 사료된다.

## References

- 1) Brugnara C, Zelmanovic D, Sorette M, Ballas SK, Platt O. Reticulocyte hemoglobin: An integrated parameter for evaluation of erythropoietic activity. *Am J Clin Pathol* 1997;108:133-42.
- 2) Sandhaus LM, Meyer P. How useful are CBC and reticulocyte reports to clinicians? *Am J Clin Pathol* 2002;118:787-93.
- 3) Davis BH, Ornvold K, Bigelow NC. Flow cytometric reticulocyte maturity index: A useful laboratory parameter of erythropoietic activity in anemia. *Cytometry* 1995;22:35-9.
- 4) Brugnara C, Hipp MJ, Irving PJ, Lathrop H, Lee PA, Minchello EM, et al. Automated reticulocyte counting and measurement of reticulocyte cellular indices: evaluation of the Miles H\*3 blood analyzer. *Am J Clin Pathol* 1994;102:623-32.
- 5) Brugnara C, Colella GM, Cremins J, Langley RC, Rutherford CJ, Goldberg MA. Effects of subcutaneous recombinant human erythropoietin in normal subjects: Development of decreased reticulocyte hemoglobin content and iron-deficient erythropoiesis. *J Lab Clin Med* 1994;123:660-7.
- 6) Brugnara C, Chambers LA, Malynn E, Goldberg MA, Kruskall MS. Red cell regeneration induced by subcutaneous recombinant erythropoietin: Iron-deficient erythropoiesis in iron-replete subjects. *Blood* 1993;81:956-64.
- 7) Macdougall IC, Cavill I, Hulme B, Bain B, McGregor E, McKay P, et al. Detection of functional iron deficiency during erythropoietin treatment: a new approach. *BMJ* 1992;25:225-6.
- 8) van Besien K, Nicols CR, Tricot G, Langefeld C, Miller ME, Akard L, et al. Characteristics of engraftment after repeated autologous bone marrow transplantation. *Exp Hematol* 1990;85:818-23.
- 9) Ahn YS. *Textbook of Pediatrics*. 8th ed, Seoul: Korea Textbook Publishing Co, 2004:807.
- 10) Buttarello M, Bulian P, Farina G, Petris MG, Temporin V, Toffolo L. Five fully automated methods for performing immature reticulocyte fraction. *Am J Clin Pathol* 2002;117:871-9.
- 11) Park KH, Lee YK, Choi TY, Kim WB, Lee DW. Clinical significance of immature reticulocyte fraction determined by automated blood cell analyzer. *Korean J Hematol* 1999;34:281-7.
- 12) Corash L, Rheinschmidt M, Lieu S, Meers P, Brew E. Enumeration of reticulocytes using fluorescence-activated flow cytometry. *Pathol Immunopathol Res* 1988;7:381-94.

- 13) Riley RS, Ben-Ezra JM, Tidwell A, Romagnoli G. Reticulocyte analysis by flow cytometry and other techniques. *Hematol Oncol Clin North Am* 2002;16:373-420.
- 14) Bae HG, Heo WB, Lee NY, Suh JS. Clinical utility of reticulocyte parameters in the early detection of hematopoietic engraftment after stem cell transplantation. *Korean J Lab Med* 2003;23:299-303.
- 15) Sowade O, Sowade B, Brilla K, Gross J, Scigalla P, Warnke H, et al. Kinetics of reticulocyte maturity fractions and indices and iron status during therapy with epoetin beta (recombinant human erythropoietin) in cardiac surgery patients. *Am J Hematol* 1997;55:89-96.
- 16) Watanabe K, Kawai Y, Takeuchi K, Shimizu N, Iri H, Ikeda Y, et al. Reticulocyte maturity as an indicator for estimating qualitative abnormality of erythropoiesis. *J Clin Pathol* 1994;47:736-39.
- 17) Wells DA, Daigneault-Creech CA, Simrell CR. Effect of iron status on reticulocyte mean channel fluorescence. *Am J Clin Pathol* 1992;97:130-4.
- 18) Davis BH. Immature reticulocyte fraction(IRF): By any name, a useful clinical parameter of erythropoietic activity. *Lab Hematol* 1996;2:2-8.
- 19) Tsuchiya K, Okano H, Teramura M, Iwamoto Y, Nihei H, Ando M, et al. Content of reticulocyte hemoglobin is a reliable tool for determining iron deficiency in dialysis patients. *Clin Nephrol* 2003;59:115-23.
- 20) Brugnara C, Zurakowski D, DiCanzio J, Boyd T, Platt O. Reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in children. *JAMA* 1999;281:2225-30.
- 21) Tatsumi N, Kojima K, Tsuda I, Yamagami S, Itoh Y, Tanaka H. Reticulocyte count used to assess recombinant human erythropoietin sensitivity to hemodialysis patients. *Contrib Nephrol* 1990;82:41-8.
- 22) Brugnara C. Use of reticulocyte cellular indices in the diagnosis and treatment of hematological disorders. *Int J Clin Lab Res* 1998;28:1-11.
- 23) d'Onofri G, Chirillo R, Zini G, Caenaro G, Tommasi M, Micciulli G. Simultaneous measurement of reticulocyte and red blood cell indices in healthy subjects and patients with microcytic and macrocytic anemia. *Blood* 1995;85:818-23.