대한세포병리학회지
ISSN 1017-0391

수기 액상세포검사 Liqui-PREP™의 세포보존력 평가 및 뇌척수액 세포검사에의 적용: 세포원심분리법과의 비교

가톨릭대학교 의과대학 병원병리학교실, 소아과학교실[1]

박 경 신 · 이 경 지 · 정 찬 권 · 이 대 형[1] · 조 빈[1] · 이 연 수 · 심 상 인 · 이 교 영 · 강 창 석

Evaluation for Cytopreservability of Manual Liquid-Based Cytology Liqui-PREP™ and its Application to Cerebrospinal Fluid Cytology: Comparative Study with Cytospin

Gyeongsin Park, M.D., Kyungji Lee, M.D., Chan-Kwon Jung, M.D., Dae-Hyoung Lee, M.D.,[1] Bin Cho, M.D.,[1] Youn-Soo Lee, M.D., Sang-In Shim, M.D., Kyo-Young Lee, M.D., Chang-Suk Kang, M.D.

Department of Hospital Pathology and Pediatrics,[1] College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

논문접수 : 2007 년 1월 16일
게재승인 : 2007 년 3월 6일

책임저자 : 강 창 석
주 소 : (150-713) 서울시 영등포구 여의도동 62 성모병원 병리과
전 화 : 02-3779-1312
팩 스 : 02-783-6648
E-mail address: cskang@catholic.ac.kr

*본 연구는 가톨릭대학교 의과대학 연구비 보조로 이루어졌음

Cerebrospinal fluid (CSF) cytology is an effective tool for evaluating diseases involving the central nervous system, but this technique is usually limited by its low cellularity and poor cellular preservation. Here we compared the manual liquid-base Liqui-PREP™ (LP) to the cytospin (CS) with using a mononuclear cell suspension and we applied both methods to the CSFs of pediatric leukemia patients. The cytopresevability, in terms of cell yield and cell size, and the clinical efficacy were evaluated. When 2000 and 4000 mononuclear cells were applied, LP was superior to CS for the cell yield, 16.8% vs 1.7% (P=0.001) and 26.2% vs 3.5% (P=0.002), respectively. The mean size of the smeared cells was 10.60 ㎛ in the CS, 5.01 ㎛ in the LP and 6.50 ㎛ in the direct smear (DS), and the size ratio was 1.7 (CS to DS), 0.8(LP to DS) and 2.1 (CS to LP), respectively. As compared to the cells in the DS, the cells in the CS were significantly enlarged, but those in the LP were slightly shrunken. Upon application to 109 CSF samples, 4 were diagnosed as positive for leukemia (positive), 4 had atypical cells and 101 were negative by CS; 6 were positive, one had atypical cells and 102 were negative by LP. For six cases, in which 4 were positive for leukemia and 2 of 4 had atypical cells by CS, they were positive by LP and they were also confirmed as positive according to the follow-up study. Three cases diagnosed as atypical cells (two by CS and one by LP), were confirmed as negative. In conclusion, these results suggest that LP is superior to CS for the cytopresevability and for rendering a definite diagnosis of cerebrospinal fluid.

(Korean J Cytopathol 2007;18(1): 46-54)

Key words : Liqui-PREP, Cytospin, Cell yield, Cerebrospinal fluid cytology

서 론

뇌척수액 세포진 검사는 중추신경계질환의 염증성 또는 악성 여부를 확인하는데 중요한 역할을 하며, 백혈병이나 림프종 환자에서는 화학요법 및 방사선 치료 결정에 중요한 지표인 중추신경계 침범 여부를 판정하기 위하여 실시된다.[1-3] 뇌척수액은 통상적으로 요추천자법으로 채취하는데 검체의 양이 소량이고 포함된 세포의 밀도가 낮은 경우가 많아 여러 차례 반복검사를 하게 된다. 근래에는 세포밀도가 낮은 소량의 검체에서도 효과적으로 세포를 슬라이드에 도말할 수 있는 방법으로 세포원심분리법 (Cytospin)이 널리 이용되고 있으며, 뇌척수액 세포진 검사에 많은 도움이 되고 있다.[4,5] 세포원심분리법으로 도말된 슬라이드에서도 원리적 특성상 원심력으로 인한 세포 변성과 손실이

예상되며, 이러한 현상은 세포 크기와 모양의 미세한 차이로 구분해야 하는 림프구성 질환이나 다소간의 세포 변성이 동반된 검체에 대한 세포 진단에 어려움을 초래할 수 있으나 이에 대해 정량적으로 연구된 바는 아직 없다. 특히 검체의 양이 비교적 적은 소아백혈병 환아의 뇌척수액 검체에서는 세포의 변성과 손실을 최소화할 수 있는 방법이 요구된다. 최근 ThinPrep® (Cytic, Boxborough, MA)나 AutoCyte PREP™ (Tripath Imaging, Burlington, NC) 등 여러 가지 액상세포검사법이 개발되어 탈락 세포 검체에 적용되었다.[6-8] 그러나 대부분은 자동화된 액상슬라이드제작법으로 고가의 장비가 필요하며, 비용과 인력이 많이 소요된다. Liqui-PREP™ (LGM International, Inc., FL)은 수기 액상세포검사법으로 특수한 장비가 필요하지 않고 절차가 간단하여 비교적 경제적이고 간편하게 시행할 수 있는 방법이다. 이에 저자들은 수기 액상세포검사법인 Liqui-PREP™의 세포 보존력을 알아보고자 고식적인 세포원심분리법과 비교하여 정량적으로 평가하였고, 소아백혈병 환아의 뇌척수액 검체에 적용하여 임상적 유용성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

세포 보존력에 대한 정량적 평가

세포 보존력을 세포 수집률과 도말된 세포의 크기로 평가하였고, 소아 백혈병 환아의 뇌척수액 세포 검사에서 흔히 관찰되는 단핵구와 유사한 말초혈 단핵구를 대상으로 하였다.

세포 수집률 평가를 위하여 말초혈에서 분리한 단핵구를 세포 수 산정 후, 1.5 ml PBS 용액에 세포의 수가 125, 250, 500, 1000, 2000, 4000 개 씩 들어 있는 세포부유액을 만들어 각각 8 개 씩 준비하였다. 각각의 검체를 4개 씩 두 군으로 나누어 세포원심분리법과 Liqui-PREP™ 법으로 슬라이드를 제작하였다. 세포원심분리법은 세포부유 검체 1.5 ml을 2000 rpm에서 5분간 원심침전 시킨 후 상청액 1.0 ml 을 버리고, 남은 침사층 0.5 ml을 Vortex Mixer로 잘 혼합하여 다시 1500 rpm에서 5분간 세포원심분리기를 이용하여 세포도말 슬라이드를 제작하였고, 95% 알코올에 30분간 고정 시킨 후 통상적인 H&E 염색을 실시하였다. Liqui-PREP™ 법은 원심분리관에 각 세포부유 검체 1.5 ml와 세포보존액 (Liqui-PREP™ preservative) 8.5 ml을 첨가하고 혼합하여 실온에서 30 분간 방치한 후, 흔들원심분리기(swing bucket centrifuge)를 이용하여 1000 중력(g force)에서 10 분간 원심분리 하였다. 상층액을 조심스럽게 쏟아 붓고 원심분리관에 남아있는 잔류 용액을 여과지를 이용하여 털어내었다. 약간 마른 상태(semi-dry)의 침전물에 세포고정액(Liqui-PREP™ Cellular Base) 50 ㎕을 첨가하고 Vertex Mixer를 이용하여 침전된 세포를 부유시킨 후 micro-pipette을 이용하여 유리슬라이드에 동심원을 그리면서 도말 하였고, 실온에서 건조시킨 후 통상적인 H&E 염색을 시행하였다. 도말된 세포의 수를 계수하기 위하여 유리칼로 선을 그어 미리 준비하여 둔 슬라이드를 이용하였다. 슬라이드에 부착된 세포의 수는 2 명의 병리의사가 동시에 관찰하며 계수기를 이용하여 도말된 모든 세포를 계수하였다.

세포의 변성 정도 평가를 위하여 두 가지 방법으로 4000 개의 말초혈 단핵구를 도말 처리한 슬라이드의 중앙부에서 1000 배 시야로 연속 관찰하여 슬라이드 당 20 개씩, 4 장의 슬라이드에서 총 80 개 세포의 크기를 측정하였고, 세포의 크기는 photoshop을 이용하여 image capture와 micrometer scale capture를 통해서 측정하였다. 세포의 상대적인 크기는 비교는 통상적인 직접도말법으로 제작된 슬라이드의 단핵구 크기를 기준으로 비교하였다.

뇌척수액 세포검사에의 적용

2006년 9월부터 2007년 11월까지 가톨릭대학교 성모병원에서 백혈병으로 진단 받고 치료 중이거나 경과 추적 관찰 중인 소아 환아 중, 뇌척수액 세포진 검사를 시행하였을 때 뇌척수액 검체를 3.0 ml 이상 확보할 수 있었던 109 예를 대상으로 하였다. Split-sample법을 채택하여 통상적인 방법으로 채취된 각 환아의 뇌척수액 검체를 고르게 부유화시킨 후 1.5 ml 씩 각각 세포원심분리법과 Liqui-PREP™이 제공하는 키트와 시약을 이용하여 슬라이드를 제작하였다. 세포 진단은 세포원심분리법에 의한 결과로 진단하였으며, Liqui-PREP™의 판독 결과는 진단에 반영하지 않고, 두 방법 간에 차이를 보이는 경우는 재검사를 요구하였다.

슬라이드 판독은 세 명의 병리의사가 관찰하여 비정형 세포의 수가 적거나 형태학적 판단이 어려운 경우를 '비정형 세포(atypical cells)' 로, 백혈병 세포를 관찰한 경우를

'양성(positive)' 으로 분류하고, 나머지를 '음성(negative)' 으로 하였으며, 의견의 차이는 토의를 통하여 조율하였다.

결 과

말초혈 단핵 세포 부유액을 이용하여 세포 수집률을 비교한 결과 비교적 적은 양의 세포를 넣어준 125, 250, 500, 1000개 군에서는 세포원심분리법과 Liqui-PREP™ system 법으로 도말된 슬라이드에서 모두 저조한 세포 수집률을 보여 두 방법 간에 차이를 보이지 않았으나, 상대적으로 많은 양의 세포를 넣어준 2000개 군과 4000개 군에서는 각각 평균 33.25개 (1.7%) 대 336.75개 (16.8%), 138.25개 (3.5%) 대 1048.25개 (26.2%)로 세포원심분리법에 비하여 Liqui-PREP™ 법에서 훨씬 높은 수집률을 보였다 (P=0.001, P=0.002). 세포원심분리법에서는 모든 세포군에서 1.7～3.5% 정도로 거의 동일한 세포 수집률을 보였던 반면, Liqui-PREP™ 법에서는 넣어준 세포의 수가 1000개 이하에서는 약 4% 정도로 거의 동일한 세포 수집률을 보였으나 넣어준 세포 수 2000개에서는 16.8%로 급격히 증가하였고, 4000개 세포군에서는 26.2%로 세포 수집율이 더욱 증가하였다 (Table 1). 세포가 도말된 영역은 세포원심분리법에서는 모든 슬라이드에서 일정하게 직경 0.6cm 크기의 원 안에 분포하여 도말 되었지만, Liqui-PREP™ 법에서는 장경이 1.5cm에서 2.0cm 크기의 타원형 영역으로 상대적으로 넓게 도말되었다.

도말된 세포의 크기 비교에서, 세포원심분리법으로 도말된 세포의 평균 크기는 10.60㎛로 통상적인 수기법으로 직접 도말된 세포의 크기 6.50㎛에 비하여 약 1.7 배 크고, 표준오차가 ±1.16㎛로 수기 직접도말(표준오차 ±0.13㎛)에 비하여 상대적으로 심한 크기 다양성을 보였다. Liqui-PREP™ 법으로 도말된 세포의 평균 크기는 5.01㎛로 직접도말에 비하여 약 0.8 배로 오히려 크기가 작았으며, 표준오차는 ±0.15㎛로 직접도말과 유사하였다. 세포원심분리법으로 도말된 세포의 크기는 Liqui-PREP™ 법으로 도말된 세포 크기 보다 약 2.1 배 정도 컸다 (Table 2). 핵의 염색상을 비교하여 보았을 때, 세포원심분리법에서는 상대적으로 핵이 연하게 염색되었고, 염색질이 열린 듯한 양상인 반면, Liqui-PREP™ 법에서는 직접 도말과 유사한 정도의 농염한 염색상을 보였다 (Fig. 1).

두 가지 방법을 뇌척수액 검체에 적용하여 보았을 때, 동일한 음성 검체로 부터 Liqui-PREP™ 법으로 도말된 세포들은 비교적 균일하고 농염한 핵 염색상을 보인 반면, 세포원심분리법으로 도말된 세포들은 훨씬 크고, 염색상과 모양이 다양하게 관찰되었다 (Fig. 2). 동일한 림프구성 백혈병 환아의 양성 검체에서는 두 가지 방법 모두에서 불규칙한 핵막, 열린 염색질 양상 그리고 크고 작은 핵인 등 백혈병 세포의 특징을 관찰할 수 있었으나, 세포원심분리법으로 도말된 세포들이 더 크고 희미하게 염색되었으며 핵막도 더 불규칙 하였다(Fig. 3).

Table 2. Comparison of mononuclear cell size according to preparation method.

Preparation	Cell size(㎛) (mean+/- standard error)	Ratio to DS	Ratio to LP
CS	10.60 +/-1.16	1.7	2.1
LP	5.01 +/-0.15	0.8	-
DS	6.50 +/-0.13	-	-

CS : Cytospin, LP : Liqui-PREP™, DS : direct smear

Table 1. Comparison of cell collection yield between Cytospin and Liqui-PREP™

Input cells	125	250	500	1000	2000	4000
Cytospin (n=4)						
mean output cells	3.75	8.0	13.5	39.0	33.25	138.25
cell yield (%)*	3.0	3.2	2.7	3.9	1.7	3.5
Liqui-PREP™ (n=4)						
mean output cells	5.75	10.5	18.25	38.25	336.75	1048.25
cell yield (%)*	4.6	4.2	3.7	3.8	16.8	26.2
P value	0.222	0.157	0.609	0.481	0.001	0.002

cell yield (%)* : mean output cells/input cells x 100

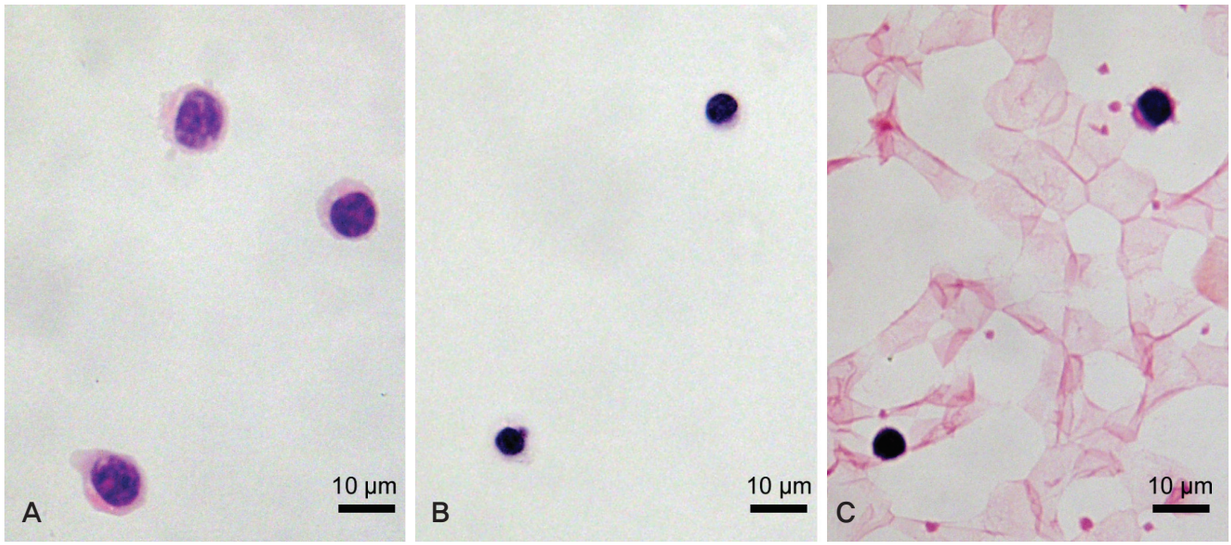

Fig. 1. Cytologic features and size of the peripheral blood mononuclear cells. (A) Cytospin preparation showing larger nuclei with a relatively open chromatin pattern. (B) Liqui-PREP™ preparation showing the relatively small nuclei with condensed chromatin. (C) Direct smear showing nuclei with condensed chromatin (H&E).

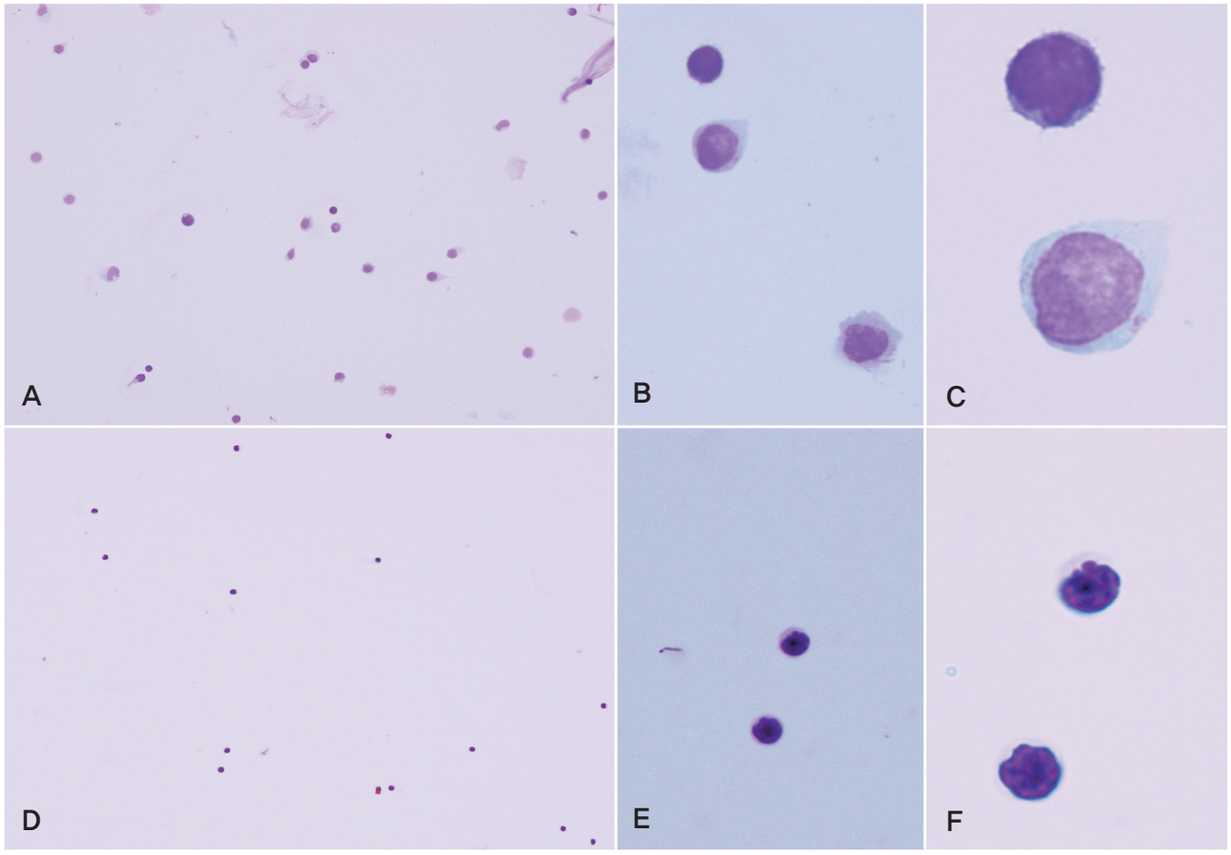

Fig. 2. Reactive mononuclear cells in the cerebrospinal fluid of an identical case. (A-C) The cytospin preparation shows relative variability in the size, shape and chromatin pattern (Wright-Giemsa)(A; x100, B; x400, C; x1000). (D-F) Liqui-PREP™ preparation showing uniform condensed nuclei (H&E) (D; x100, E; x400, F; x1000).

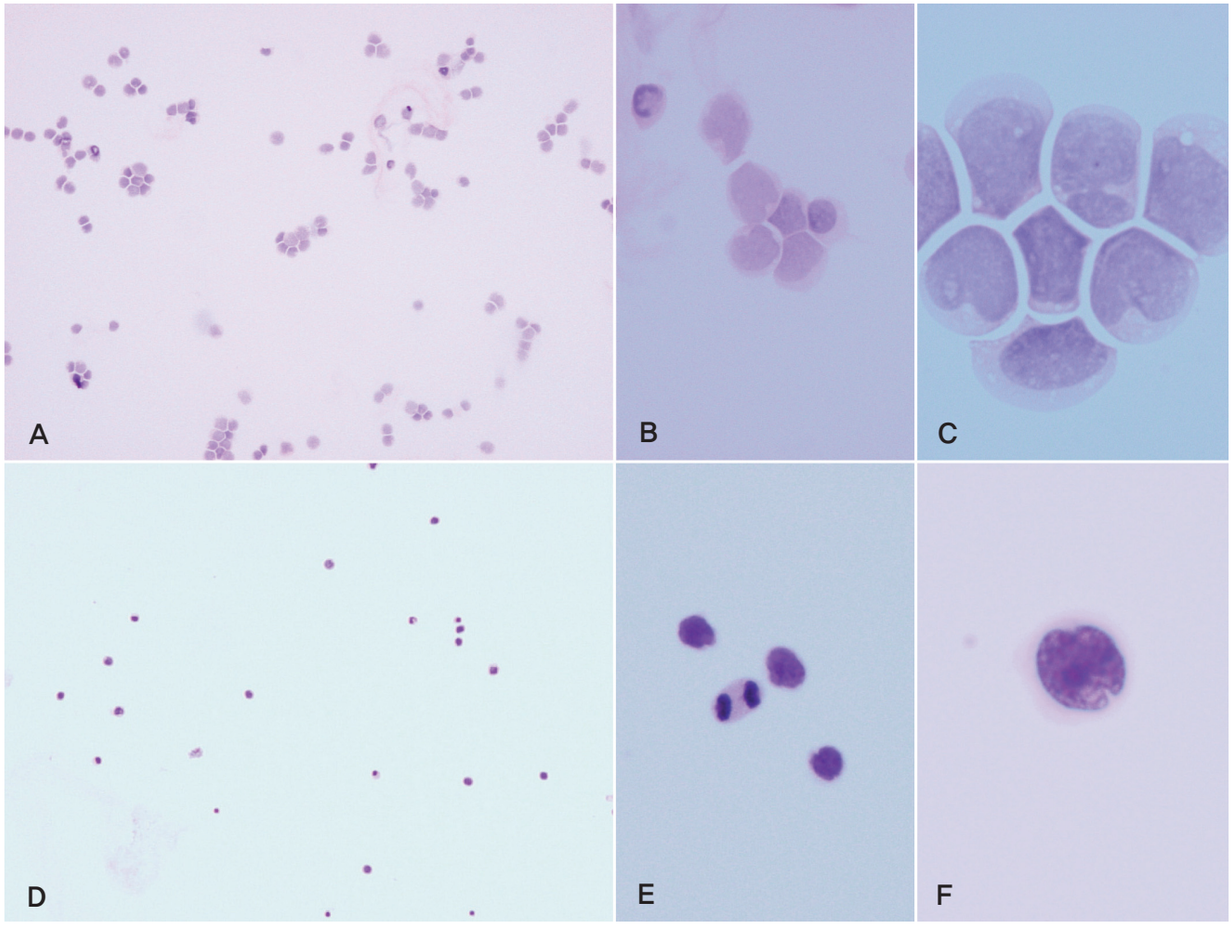

Fig. 3. Lymphoblastic leukemia cells in the cerebrospinal fluid of an identical case. (A–C) Cytospin(Wright–Giemsa)(A; x100, B; x400, C; x1000). (D–F) Liqui-PREP™ (H&E)(D; x100, E; x400, F; x1000).

소아백혈병 환아 109 명의 뇌척수액 검체에 대한 세포진단 결과 세포원심분리법에서는 음성이 101예 (92.7%), 비정형 세포가 4예 (3.7%), 양성이 4예 (3.7%)였고, Liqui-PREP™ 법에서는 음성이 102예(93.6%), 비정형 세포가 1예 (0.9%), 양성이 6예 (5.5%)로 Liqui-PREP™ 법이 악성 여부를 더 분명하게 구분해주는 양상을 보였으나 양성 검체 수가 너무 작아 통계학적 유의성은 확인할 수 없었다 (Table 3). 세포원심분리법에서 양성으로 진단된 4 예는 모두 세포밀도가 높은 검체들이었고, Liqui-PREP™ 법에서도 모두 악성으로 진단되었다.

두 방법 간에 진단 상 차이를 보였던 5예는 세포밀도가 중등도 내지는 낮은 검체들이었다. 세포원심분리법에서 비정형 세포로 진단되었던 4예 중 2예는 Liqui-PREP™ 법에서는 악성으로 진단되었고 추적검사에서 급성림프모구성 백혈병 재발과 급성 골수성 백혈병 재발 각 1예 씩으로 확인되었으며, 나머지 2예는 예는 Liqui-PREP™ 법에서는 음성으로 진단되었고 추적 검사에서도 음성이었다. Liqui-

Table 3. Cytologic diagnosis and comparison between Cytospin and Liqui-PREP™ in cerebrospinal fluid of pediatric leukemia patients.

CS \ LP	Negative	Atypicalcells	Positive*	Total
Negative	100	1	-	101
Atypical cells	2	0	2	4
Positive*	-	-	4	4
Total	102	1	6	

CS : Cytospin, LP : Liqui-PREP™, *: positive for leukemic cells

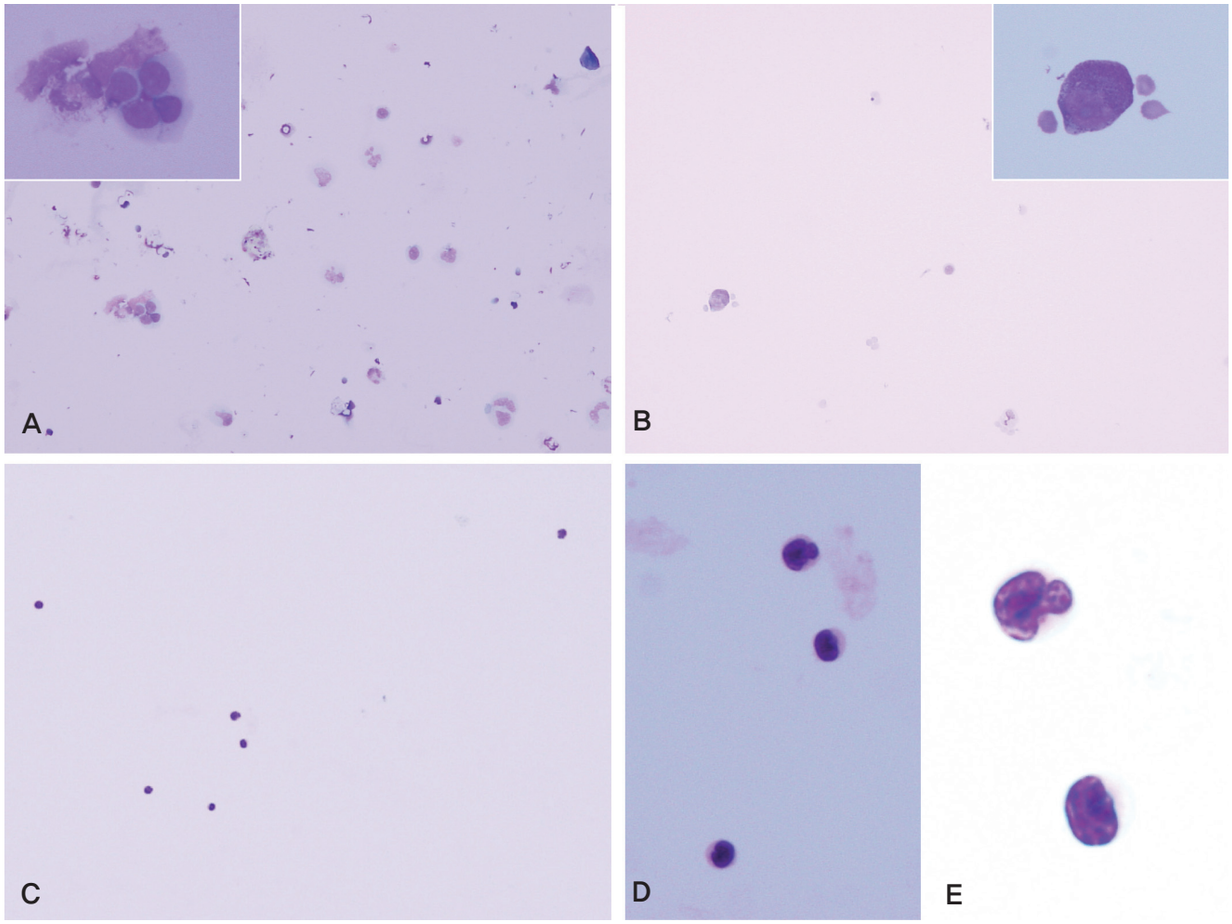

Fig. 4. Cases that showed a of diagnostic discrepancy between Cytospin and Liqui-PREP™. (A) Atypical cells on the degenerative smear of cytospin (Wright-Giemsa, x100 and oil immersion (inset)). (B) Single atypical cell on a minimal degenerative smear of cytospin (Wright-Giemsa, x100 and oil immersion(inset)). (C-E) A few atypical cells on a very low cellular smear of Liqui-PREP™ (H&E)(C; x100, D; x400, E; x1000).

Table 4. Summary of 5 cases showing diagnostic discrepancy

#	CS	LP	Diagnosis in follow-up study
1	Atypical cells	Positive*	ALL relapse
2	Atypical cells	Positive*	AML relapse
3	Atypical cells	Negative	Negative
4	Atypical cells	Negative	Negative
5	Negative	Atypical cells	Negative

CS : Cytospin, LP : Liqui-PREP™
* : Positive for leukemic cell
# : Case Number

PREP™ 법에서 비정형 세포로 진단되었던 1예는 세포원심분리법에서 음성으로 진단되었고 추적 검사에서는 음성이었다 (Table 4)(Fig. 4). 두 방법 간에 진단이 음성 또는 비정형세포로 차이를 보였으나 추적 검사에서 음성을 보였던 3예는 모두 경막내 화학요법을 시행 중인 환아들이었다.

고 찰

세포 밀도가 낮고 소량인 검체에서 적절한 세포학적 진단을 위해서는 세포를 효과적으로 수집 도말할 수 있는 슬라이드 표본제작 기술이 중요하다.[1] 소아백혈병의 중추신경계 침범은 화학요법의 용량 및 방사선 치료 여부를 결정하는 참고 지표가 된다.[2,3] 초기 치료는 전신화학요법과 더불어 경막내 화학요법을 병행하게 되는데 뇌척수액 채취와

동시에 경막내 화학요법을 시행하기 때문에 초기 중추신경계 침범 여부 확인을 위해서는 처음 검체에서의 진단이 중요하다.

근래에 세포원심분리법의 도입으로 소량의 액상 검체로부터 양질의 세포도말을 얻을 수 있어 진단에 많은 도움을 받게 되었으나, 최근에는 세포의 손실과 변성을 최소화하기 위한 노력으로 여러 가지 액상 세포검사법이 개발되었으며 세포원심분리법과의 장단점에 대하여 비교 연구되었다.[6-8] Wright 등[6]은 요 검체를 대상으로 비교 분석한 결과 액상 세포검사법인 ThinPrep® 으로 도말된 슬라이드가 세포원심분리법으로 도말된 슬라이드에서 보다 세포 수집률(yield)과 세포 보존 상태가 개선되었으며, 배경의 인공산물은 감소하였다고 보고하였다. 또한 분명한 요로상피암에 대한 진단율은 두 방법간에 차이를 보이지 않았으나, 비정형세포에 대해서는 높은 검출률을 보여 ThinPrep® 도말 슬라이드 1장이 세포원심분리법으로 도말된 슬라이드 4장에 해당할 만큼 우세하다고 평가하였다. AutoCyte PREP™으로 도말된 슬라이드에서는 세포원심분리법에 비하여 유리한 점을 확인하지 못하였다. Nassar 등[7]은 요 검체를 대상으로 비교한 연구에서 ThinPrep® 으로 도말된 슬라이드가 도말 배경이 깨끗한 점은 유리하였으나 세포들이 수축되어 작게 관찰되어 반응성 정상세포와의 감별이 어렵고, 3차원적인 세포 덩어리가 흩어져 낱개의 세포로 도말되는 경향을 보여 악성 진단에는 오히려 불리할 수도 있기 때문에 두 가지 방법을 동시에 시행하는 것이 좋겠다고 제안하였다. Tarik 등[8]은 요, 호흡기, 체액 등 탈락세포 검체를 대상으로 비교한 연구에서 세포 수집률은 대부분의 경우 유사하였으나, 슬라이드 검사자들(cytologists)은 ThinPrep®으로 도말된 슬라이드를 선호하였으며, 비정형세포를 보이는 검체들에 대한 악성 변별력은 ThinPrep® 으로 도말된 슬라이드가 세포원심분리법에 비하여 3 배 정도 유리하였다고 보고하였다. 도말 세포들의 균일한 분포와 핵 염색질의 양상은 ThinPrep® 슬라이드가 유리하였으나, 세포 덩어리의 크기와 3차원적 구조 유지 면에서는 불리하였고, 세포 크기가 수축되어 작아지는 점을 지적하였다.

본 연구에서는 세포 보존력을 세포 수집률 비교와 도말된 세포의 크기 분석을 이용한 세포 변성 정도 비교를 통하여 평가하였다. 세포 수집률에 대해서는 연구자에 따라 다르게 보고하였지만 이들은 검체의 세포 밀도와 검체에 포함된 세포의 크기 다양성에 따른 영향을 고려하지 못하였고, 현미경 관찰에 의한 대략적인 비교라는 한계가 있다. 본 연구에서는 세포 수집율에 대한 정량적인 평가를 위하여 크기가 비교적 균일한 말초혈 단핵구를 이용하였고, 인위적으로 산정된 세포를 포함하는 액상 검체를 대상으로 비교하였다. 세포 수 1000 개 이하의 검체에서는 고식적인 세포원심분리법과 수기 액상세포검사법인 Liqui-PREP™ 법으로 제작된 슬라이드 간에 세포 수집율의 차이를 보이지 않았으나, 2000 개와 4000 개 세포를 포함하는 검체에서는 Liqui-PREP™ 법이 각각 16.8%와 26.2%로 세포원심분리법의 1.7%와 3.5%에 비하여 훨씬 우세하였다. 또한 2000 개 세포 이상의 검체에서는 세포 수집률이 점점 증가하는 양상으로 보아 검체 처리 및 슬라이드 제작 과정에서 일정 정도의 세포 손실은 불가피하지만 그 이상 추가적인 세포 손실은 최소화할 수 있는 방법임을 알 수 있었다. 반면에 세포원심분리법은 세포 수가 4000 개까지의 검체 모두에서 비교적 일정하게 낮은 비율의 세포 수집율을 보여 세포 농도가 낮고 소량인 검체에 적용하기 위해서는 방법적인 개선이 필요함을 보여 주었다. 세포 수 4000 개는 일반적인 수동 계수기로 관찰할 때 계수판 영역에서 4 개의 세포가 관찰되는 검체 1 ml에 포함되는 세포의 수에 해당된다. 소아 백혈병 환아의 뇌척수액은 검체 채취 방법의 특성상 소량인 경우가 많아서 중추신경계 침범 초기 또는 포함된 백혈병 세포가 소수인 경우 Liqui-PREP™ 법과 같이 검체에 대한 세포 수집력이 우세한 방법을 이용하는 것이 진단에 결정적인 영향을 줄 수 있음을 보여주었다. Tarik 등[8]은 슬라이드 검사자들이 ThinPrep®으로 도말된 슬라이드를 선호하였다고 하였으나 이는 깨끗한 도말 배경으로 관찰하기에 유리한 점을 반영한다고 생각된다. 본 연구에서 시행한 Liqui-PREP™ 법은 도말 배경은 보다 깨끗하였으나, 세포원심분리법에 비해 훨씬 넓게 도말 되어 판독하기에는 오히려 불편함을 주었으며, 도말 영역을 적당하게 하기 위한 약간의 숙련도를 필요로 하였다.

세포 진단에 문제가 되는 세포의 변성은 검체에 포함된 세포 자체의 생물학적 변성뿐만 아니라 슬라이드 제작 방법에 따른 세포 변성도 고려해야 한다. Nassar 등[7]과 Tarik 등[8]은 액상세포검사법에서 세포가 수축되어 작게 보임으로 인해서 반응성 정상세포와의 감별이 어려운 경향이 있다고 하였다. 그러나 세포원심분리법과 비교하여 도말된 세포의 상대적인 크기 차이를 정량적으로 분석한 연구 보고는 아직 없다. 본 연구에서 동일한 말초혈 단핵구를 이용하여 수기 직접 도말법으로 제작된 도말 세포의 크기를 기

준으로 하여 비교하였을 때, Liqui-PREP™ 법으로 도말된 세포는 직접 도말 세포의 약 0.8 배로 기존 보고에서와 같이 세포가 수축되어 작아지는 현상을 관찰할 수가 있었으며, 핵 염색질은 약간 더 짙게 염색되었다. 반면에 세포원심분리법으로 도말된 세포는 직접 도말 세포 크기의 1.7 배였고, Liqui-PREP™ 법 도말 세포에 비해서는 2.1 배로 훨씬 크게 관찰 되었으며, 핵 염색질도 연하고 열린듯 한 양상이었다. 이러한 현상은 세포원심분리법의 원리적 특성상 원심력으로 인해 세포가 슬라이드에 부착되는 과정에서 납작해지고 넓게 퍼지기 때문으로 생각된다. 적당한 정도의 세포 퍼짐 현상은 염색질의 자세한 소견을 확인하는데 도움이 될 수도 있으나, 림프구성 질환과 같이 핵의 크기와 염색질의 미세한 차이로 진단해야 하는 경우 과도한 퍼짐 현상으로 인하여 거짓 양성으로 진단될 수 있는 가능성을 염두에 두 필요가 있다.

뇌척수액 검체에서 세포원심분리법의 유용성은 잘 알려져 있고, 널리 쓰이고 있으나,[4,5] 방법상의 한계와 단점에 대해서는 보고된 바가 거의 없으며 더구나 액상 세포검사법과 비교 분석한 연구 보고는 아직 없다. 본 연구에서 소아 백혈병 환아의 뇌척수액 검체 109 예를 대상으로 분석하여 보았을 때, 동일한 검체로 부터 Liqui-PREP™법으로 도말된 슬라이드에서는 반응성 정상세포들이 비교적 균일하고 농염한 핵 염색상을 보인 반면, 세포원심분리법으로 도말된 세포들은 훨씬 크고, 염색상과 모양이 다양하게 관찰되었고, 염색질의 양상도 열린듯 한 소견을 보여 백혈병 세포와의 세밀한 감별을 요하였으며, 슬라이드 제작 방법에 따라서 세포의 수축 또는 퍼짐 현상으로 인하여 도말된 세포 소견이 상당히 달라질 수 있음을 보여 주었다.

백혈병 세포가 충분히 포함되었던 4예에서는 두 가지 방법 모두 백혈병으로 진단하는데 별 문제가 없었다. 그러나 세포밀도가 낮았던 5예에서는 세포의 변성 상태와 비정형 세포의 포함 여부에 따라 상이한 진단을 보여 주었다. 두 방법 간에 진단이 달랐던 5예 중 2예는 세포원심분리법에서는 비정형세포가 소수만이 관찰되어 '비정형 세포' 로 진단되었으나, Liqui-PREP™법에서는 비교적 충분한 세포가 관찰되어 악성으로 진단할 수 있었는데, 이는 소수의 백혈병 세포가 포함된 검체에서 Liqui-PREP™법이 보다 유리함을 보여주는 예라 할 수 있겠다. 1예는 세포원심분리법에서는 음성으로, Liqui-PREP™법에서는 '비정형 세포' 로 진단되었으며, 2예는 세포원심분리법에서는 '비정형 세포'로, Liqui-PREP™법에서는 음성으로 진단되었으나 3예 모두 추적 검사에서는 음성이었다. 소아 백혈병 환아의 뇌척수액이라는 특성상 조직 검사로 확인이 불가능하여 추적 검사로 확인할 수 밖에 없었으며, 3예 모두 검체 채취와 동시에 경막내 화학요법을 시행하였던 예로 처음 검체에서 관찰되었던 비정형세포의 생물학적 본질을 확인할 방법은 없었다.

'비정형세포' 로 진단된 예는 Liqui-PREP™법에서는 1예인 반면 세포원심분리법에서는 4예로 더 많았는데 이는 슬라이드 제작 과정에서의 세포 퍼짐 현상으로 인하여 세포 소견에 대한 변별력이 저하된 것으로 생각되나 대상 검체 수가 너무 작아 통계적 유의성을 확인할 수는 없었다.

본 연구에서 비교하였던 Liqui-PREP™법과 세포원심분리법 모두 검체의 양과 세포 밀도에 따라 도말 세포 밀도 조절이 가능한 방법이다. 그러나 일반적으로 세포 밀도가 낮고 소량인 검체에 대해서는 세포 수집효율이 높고 세포 변성을 최소화 할 수 있는 방법으로 슬라이드를 제작할 필요가 있으며, Liqui-PREP™법은 술기가 비교적 간편하고 경제적인 방법으로 충분히 고려해볼 가치가 있다고 생각되며 진단의 정확도를 높이는데 기여할 수 있을 것으로 추측된다.

결 론

세포 보존력에 대한 정량적인 분석 결과 Liqui-PREP™은 고식적인 세포원심분리법에 비하여 높은 세포 수집율을 보여주었고, 도말된 세포가 직접도말 세포와 유사한 크기로 비교적 잘 유지되었다. 그러나 비교적 넓은 영역에 세포가 도말되는 점과 다른 액상 세포검사법에서 인지되는 세포가 수축하여 작게 보이는 현상은 Liqui-PREP™에서도 나타나며, 이에 대해서는 향 후 방법적인 개선이 필요할 것으로 생각된다. 소아 백혈병 환아의 뇌척수액 검체에 적용하여 보았을 때, 세포원심분리법에 비하여 세포의 악성 여부를 보다 분명히 구분해주는 경향을 보여 진단의 정확도를 높이는데 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Koss LG. Diagnostic cytology and its histopathologic bases. Vol. 2. 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott Co, 2006;1023-55.

2. Laver JH, Barredo JC, Amylon M, et al. Effects of cranial radiation in children with high risk T cell acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group report. *Leukemia* 2000;14:369-73.
3. Nathan PC, Maze R, Spiegler B, Greenberg ML, Weitzman S, Hitzler JK. CNS-directed therapy in young children with T-lineage acute lymphoblastic leukemia: high-dose methotrexate versus cranial irradiation. *Pediatr Blood Cancer* 2004;42:24-9.
4. Suh JH, Gong GY, Kang SK, Kim OJ. Cytologic analysis of malignant tumor cells in cerebrospinal fluid. *Korean J Cytopathol* 1998;9:21-8.
5. Kim YM, Jeon MY, Chi JG. Cytologic features and distribution of primary sites of malignant cells in cerebrospinal fluid. *Korean J Cytopathol* 2000;11:65-73.
6. Wright RG, Halford JA. Evaluation of thin-layer methods in urine cytology. *Cytopathology* 2001;12:306-13.
7. Nassar H, Ali-Fehmi R, Madan S. Use of ThinPrep monolayer technique and cytospin preparation in urine cytology: a comparative analysis. *Diagn Cytopathol* 2003;28:115-8.
8. Elsheikh TM, Kirkpatrick JL, Wu HH. The significance of "low-grade squamous intraepithelial lesion, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion" as a distinct squamous abnormality category in Papanicolaou tests. *Cancer* 2006;108:277-81.