

진단유전학검사 사업보고 및 신빙도조사 결과보고(1997)

대한임상검사정도관리협회 진단유전학분과위원회

조현찬(집필대표)·김선희·박성섭·윤혜령·김의종·박숙자·박종우
서순팔·송경순·이유경·전효진·지현숙

= Abstract =

Annual Report on External Quality Assessment in Diagnostic Genetics in Korea (1997)

Hyun Chan Cho, Sun Hee Kim, Sung Sup Park, Hye Ryoung Yoon,
Eui Chong Kim, Suk Ja Park, Jong Woo Park, Soon Pal Seo,
Kyung Soon Song, Yu Kyung Lee, Hyo Jin Jeon, and Hyun Sook Chi

*Diagnostic Genetics Subcommittee,
The Korean Association of Quality Assurance for Clinical Pathology,
Seoul, Korea*

Most genetic laboratories have experienced dramatic growth throughout 1990s and are still expanding with wider application of new molecular genetic and cytogenetic technologies. Thus the importance of quality control for those genetic tests continues to be emphasized with increasing clinical demands. The external quality assessment program of KSQACP will be one of the best answers for that. The subcommittee conducted two surveys of the genetic laboratories in Korea and performed a proficiency trial for cytogenetic study in the first year, 1997. Most genetic laboratories are small-sized with limited test items and so there are many difficulties to be expected for the quality assurance. The first trial for chromosome study with three cases was distributed to 30 laboratories and most cytogenetic laboratories performed acceptable. External quality assessment program with an increasing participation of molecular and cytogenetic laboratories will be very helpful to improve the quality of diagnostic genetic laboratory in Korea.

Key Words : External quality assessment, Diagnostic genetics

교신저자 : 김선희, (135-710)성균관의대 삼성서울병원 임상병리과(전화 : 02-3410-2704, FAX : 02-3410-2719)

서 론

DNA나 염색체 등의 유전물질을 이용하는 진단유전학 검사들은 최근 들어 질병의 원인을 이해하거나 또는 특정질환의 진단방법으로 사용되는 등의 임상이용이 활발해지고 그 중요성이 크게 확대되고 있다. 따라서 이들 진단유전학 검사들의 표준화 및 정도관리의 필요성도 점점 커지고 있는데 대한임상검사정도관리협회에서는 이를 위하여 진단유전학분과를 만들고, DNA 수준의 검사를 담당하는 분자유전검사 세부분과와 염색체검사를 담당하는 세포유전검사 세부분과로 나누어 사업을 시작하였다.

진단유전학분과는 그 첫 번째 사업으로 국내 진단유전학 검사현황을 알기 위하여 450여개의 대한임상검사정도관리협회 가입기관을 대상으로 설문조사를 실시하였다. 1997년 8월에 실시한 1차 설문조사에 의하면 현재 염색체검사를 실행하고 있는 기관은 30기관, 분자유전검사를 실시하고 있는 기관은 40기관이었으며 대부분의 검사시행기관이 정도관리 프로그램의 의미와 필요성을 인식하고 참가를 희망하였다. 이에 따라 1차년도인 1997년에 세포유전검사분야에서 염색체검사 정도관리 프로그램이 처음으로 실시되었다. 설문조사로 얻어진 국내의 진단유전학 검사 및 검사실의 현황과 제 1차 염색체검사 의부정도관리 프로그램의 결과를 보고한다.

재료 및 방법

설문조사

1차 설문조사에서는 전체 대한임상검사정도관리협회 가입기관에 대하여 우편으로 설문지를 발송하였고 각 기관에서의 세포유전 및 분자유전 검사를 실시하는지 여부와 앞으로 정도관리 프로그램 참가를 희망하는지를 조사하였다. 2차 설문조사는 현재 세포유전검사실을 운영하고 있는 27기관을 대상으로 각 기관에서 운영하고 있는 염색체검사실의 규모와 운영, 검사종목 및 검체에 따른 검사방법 등을 조사하였고 총 25기관으로부터 답변을 얻었다.

2. 염색체검사 신빙도검사

1997년 12월에 실시된 첫 번째 염색체검사 정도관리 프로그램은 3예(97CY-01, 97CY-02, 97CY-03)의 핵형분석을 위한 것으로, 각 증례마다 환자의 간단한 임상정보와 서로 다른 5개의 세포분열 중기 사진을 보냈다. 각각의 분열 중기세포의 사진은 핵형분석(karyotyping)이 필요한 기관을 위해서 같은 사진을 2장씩 보냈고 대부분의 세포분열 중기 세포는 G-분염법(分染法)으로 염색된 것이었으며 97CY-03 cell #5만이 Q-분염사진이었다. 검사결과 보고는 각 검사실에서 사용하는 통상적인 방법으로 분열중기세포를 분석한 후 최종 핵형(karyotype) 결과를 세포유전학 명명체계에 대한 국제규약 (ISCN, 1995)[1]의 단축형에 따라 기술하도록 하였다.

결과분석은 다음과 같은 기준[2]으로 하였다.

- 1) 각 검체에 대한 핵형의 기대치(target value)는 “참여기관 80% 이상의 의견일치”가 있는 경우로 정하였다.
- 2) 각 검체에 대한 핵형은 다음과 같은 M, S, A, N의 네 가지 요소로써 평가하였고, 각 네 가지 요소에 대한 평가등급은 다음과 같은 기준으로 □, ①, ②, ③ 으로 분류하였다.

M = Modal chromosome number
S = Sex chromosome designation
A = Recognition of abnormalities
N = Karyotype nomenclature

□ = Not graded
① = Good performance
② = Acceptable performance
③ = Unacceptable performance

결 과

1. 국내 세포유전검사실의 현황

1) 검사실의 개설 및 구조현황

1차 설문조사에 따르면 염색체검사를 실시하고 있는 기관은 모두 30기관이었고 이 중 27기관이 대한임상검사정도관리협회의 진단유전학분과에서 시행할 정도관리 프로그램에의 참가를 신청하였고, 조만간 검사실을 개설할 예정인 3기관도 정도관리

Table 1. Current status on molecular diagnosis in Korea: Molecular diagnostic tests and the performed laboratories

Class	Test items	Performed laboratories	
		No.	% (per total 38 labs*)
Infectious disease (29 tests)	M. tuberculosis	33	87%
	Hepatitis C Virus	33	87%
	Papilloma virus	20	53%
	Cytomegalovirus	15	39%
	Chlamydia trachomatis	12	32%
	Herpes simplex virus	10	26%
	Epstein-Barr virus	9	24%
	Hepatitis B virus	3	8%
	Parvovirus	3	8%
	Pneumocystis carinii	2	5%
Miscellaneous 17 tests :	Hepatitis G virus	2	5%
	Mycoplasma pneumoniae	2	5%
	Each test performed in one laboratory only.		
	Cancer (7 tests)	17	45%
	bcr-abl rearrangement	8	21%
	PML-RARA rearrangement	5	13%
	bcl2 rearrangement	5	13%
	Ig gene rearrangement	5	13%
	TCR gene rearrangement	4	11%
	AML1-ETO rearrangement	3	9%
Genetic diseases (30 tests)	DMD/BMD	6	16%
	Fragile X syndrome	5	13%
	Apo E genotyping	4	11%
	Myotonic dystrophy	3	9%
	Factor V Leiden	2	5%
	CMT	2	5%
	Spinal muscular atrophy	2	5%
	Miscellaneous 23 tests :		
	Each test performed in one laboratory only.		
	Others (2 tests)	18	47%
	HLA-DR	7	18%
	DNA Fingerprinting		

*Thirty-eight laboratories reported to perform 68 kinds of tests.

Abbreviations : Ig:Immunoglobulin; TCR:T cell receptor;
DMD/BMD:Duchenne /Becker muscular dystrophy;
CMT:Charcot-Marie-Tooth disease

에 참여를 희망하였다.

국내 세포유전검사실은 1977년과 1978년에 각각 염색체검사를 시작한 두 검사실이 있었지만 25기

관 중 20기관이 최근 2-3년내에 검사실을 개설한 것으로 조사되었다. 검사종사자 수는 대부분 1-3명으로 소규모 검사실이었으며 5-8명의 검사자가 일

하는 비교적 큰 검사실은 모두 수탁검사를 위한 임상검사센터의 검사실이었다. 검사자의 대부분은 임상병리사였지만, 9기관에서는 생물학 분야의 석사나 전공의 혹은 전문의가 직접 검사 및 염색체 분석을 하고 있었다. 세포유전검사실의 책임자는 19기관에서 임상병리전문의가 그 역할을 담당하고 있었고, 4기관은 산부인과 전문의, 나머지 3기관은 소아과전문의 혹은 Ph.D.가 세포유전검사실을 책임지고 있었다. 지리적 분포를 살펴보면 서울에 15 검사실이 위치하고 있었으며 나머지 검사실은 강원도를 제외하면 전국적으로 고루 분포하고 있었다. 특이한 점은 같은 병원 내에서도 검체종류에 따라 한 개 이상의 세포유전검사실을 운영하고 있는 곳이 상당수였다.

2) 검사종목

25기관의 염색체검사실 모두에서 말초혈액의 염색체검사를 실시하고 있었고, 골수세포의 염색체검사는 24기관, 양수검사는 19기관에서, 응모검사는 17기관에서 시행되고 있었으며 고형종양의 염색체 검사는 7기관에서 시행하고 있었다. 최근 임상적용 및 진단적 가치가 커지고 있는 분자세포유전검사 (molecular cytogenetics), 특히 fluorescence *in situ* hybridization (FISH)은 7기관에서만 임상적 목적으로 시행되고 있었다.

3) 검사방법 및 검사수가

대부분의 검사실에서는 통상적인 배양방법인 플라스크를 이용한 세포배양을 실시하고 있었으며, 말초혈액은 72시간, 골수세포는 0-24시간의 배양 기간을 이용하였고 G-분염법을 사용하였다. 골수 검체를 위한 염색체검사에서는 고정도분염법의 이용이 많았으며 양수세포의 염색체검사를 위해 *in situ* culture 방법을 적용하고 있는 검사실은 7 기관뿐이었다. 대부분의 검사실에서 적어도 20개 이상의 분열세포를 관찰하여 염색체분석을 하고 있었지만, 핵형분석은 전혀 하지 않는 검사실에서부터 분석하는 모든 분열세포의 핵형을 기록하는 곳 까지 매우 다양하였다. 염색체검사의 역사가 길지 않은데 비해 자동핵형분석기를 사용하고 있는 검사실은 16군데로 예상보다 많았다.

현실적으로 너무 낮은 보험수가 때문인지 보험수가를 그대로 적용하고 있는 검사실은 오로지 한 검사실뿐이었으며 검사수가도 각 기관별로 큰 차

이를 보이고 있었다.

2. 국내 분자유전검사실의 현황

설문조사를 시행한 정도관리협회 가입기관 중 분자유전검사를 실시하는 기관은 40개이었고 이 중 39기관이 본 분과에서 시행하는 정도관리에 참여를 희망하였다. 검사실의 책임자는 36기관이 임상병리 전문의였고, 나머지 4기관은 각각 내과, 해부병리, 산부인과 전문의 및 Ph.D. 이었다.

분자유전검사종목을 보면 응답한 38기관에서 총 68종목이 검사되고 있었다. 또한 각 검사실에서 여러 종목의 분자유전검사를 현재 준비중에 있다고 답하여, 앞으로 급속히 증가할 것으로 생각된다. 현재 가장 활발하게 이용되는 검사는 결핵균과 C 형 간염바이러스, papilloma 바이러스, bcr-abl 재배열 검사, HLA-DR 검사 등이었다. Table 1은 2 기관 이상에서 시행하는 검사종목과 그 실시하는 기관수를 감염질환, 종양, 유전질환, 기타의 4분야로 나누어 조사한 결과이다.

3. 염색체검사의 신빙도조사 결과

1997년 12월에 실시된 제 1차 염색체검사 정도 관리 검체는 30기관의 검사실에 발송되었고 27기관의 검사실로부터 결과회신을 받았다. 검체별 결과분석 내용은 Table 2, 3, 4와 같다.

고 찰

국내의 진단유전학 검사실은 대부분 최근에 개설된 소규모의 검사실로서 검사자의 교육이나 검사방법의 표준화 등의 정도관리에 많은 어려움이 예상되고 있다. 한편, 세포유전이나 분자유전검사에 대한 임상적 요구는 질적으로나 양적인 측면, 모두에서 크게 확대되고 있고, 이러한 검사들은 검사방법이 매우 까다롭고 그 해석에 많은 전문지식이 요구되므로 적절한 정도관리 프로그램은 필수적이라 할 수 있다. 정도관리를 위한 한 방법으로 대한임상검사정도관리협회에서는 진단유전학분과를 통한 신빙도검사를 실시하여 검사방법의 표준화를 도모하고 그 결과를 토대로 필요한 교육을 실시하여 국내 진단유전학검사실의 질적 향상을 꾀하고자 하였다.

1차로 실시된 신빙도검사 결과를 분석해 보면

Table 2. Results of 97CY-01

Karyotype	Grading				Participants	
	M*	S*	A*	N*	No	%
46,XY	1	1	1	1**	23	85.2
47,XY	3	1	1	3**	1	3.7
46,XY[5]	1	1	1	2**	2	7.4
46,XY,9qh+	1	1	1	2	1	3.7

*M : Modal chromosome number,

S : Sex chromosome designation

A : Recognition of abnormalities,

N : Karyotype nomenclature

**□ : Not graded,

① : Good performance,

② : Acceptable performance,

③ : Unacceptable performance

Table 3. Results of 97CY-02

Karyotype	Grading				Participants	
	M*	S*	A*	N*	No	%
45,X	1	1	1	1**	21	77.8
45,XO	1	1	1	3**	3	11.7
45,X[5]	1	1	1	2**	1	3.7
45,X[4]	1	1	1	2	1	3.7
46,X,i(Xq)[1]/46,XX[4]	3	3	3	3	1	3.7

*M : Modal chromosome number,

S : Sex chromosome designation

A : Recognition of abnormalities,

N : Karyotype nomenclature

**□ : Not graded,

① : Good performance,

② : Acceptable performance,

③ : Unacceptable performance

97CY-01은 말초혈액의 염색체검사로서 정상결과 (46,XY)를 보이는 증례였는데 참가자의 96%가 정확한 분석을 하였다. 단지 cell #2의 9번 염색체에서 관찰된 이형염색질(heterochromatin)의 다형성(polymorphism)을 한 검사실에서 핵형에 기록하였는데 이는 보고서 작성 요령에 기록되어 있듯이 이다형성(hetero-polymorphism)은 포함시키지 않아야 한다. 9qh+는 정상인에서 흔히 관찰되는 소견으로 그 임상적 의미가 없는 것으로 알려져 있고 만일 한 환자의 검체라면 모든 중기세포에서 관찰되어야 하지만, 97CY-01의 중기세포 사진들은 정상소견을 보인 여러 증례를 모아 구성한 것으로 #2에서만 관찰되었다.

97CY-02는 Turner 증후군 환자의 증례로서 대부분의 검사실에서 정확한 핵형(45,X)을 분석하였으나 3 검사실에서는 이를 45,XO로 명명하였고 또한 검사실은 X 염색체의 구조이상이 관찰된다고 기록하였다. 출생시 고유한 성염색체 (constitutional sex chromosome)를 명명할 때 성염색체는 핵빈도수(modal number) 바로 뒤에 기술하며 X 염색

체가 없을 때는 0 또는 +, - 기호는 사용하지 않도록 ISCN(1995)은 기술하고 있어서 45,XO는 더 이상 사용되지 않는 명명 방법이다.

97CY-03은 만성골수구성백혈병환자의 골수세포 염색체로서 특징적인 t(9;22)가 관찰된 증례였다. 하지만 각 분열세포(metaphase)마다 다른 핵형을 보였는데, 즉 cell #1은 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2), cell #2은 45,X,-Y,t(9;22)(q34;q11.2), cell #3은 43,X,-Y,-1,t(9;22)(q34;q11.2), -11,-12,+mar, cell #4은 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)였고 cell #5은 46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)였다. 종양질환에 동반되는 염색체이상은 []내에 각 핵형이 관찰된 세포 수를 기입하고 그 중 염색체 이상을 보이는 세포군의 핵형(clonal abnormality)만을 결과에 포함시켜야 한다. 또, 각각의 중기세포의 해상도는 약 400염색대(band) 정도이므로 Philadelphia (Ph) 염색체의 절단점(breakpoint)은 t(9;22)(q34;q11.2)로 기술되어야 한다. 그러나 3번째 골수검체 문제는 증례를 구성하면서 생긴 성염색체의 오류로 참여기관의 결과가 매우 다양하여 “참여기관 80%

Table 4. Results of 97CY-03

Karyotype	Grading				Participants	
	M*	S*	A*	N*	No	%
46,XY,t(9;22)(q34;q11)[5]	**				2	7.4
46,XY,t(9;22)(q34;q11)					6	22.2
46,XY,t(9;22)(q34.1;q11.2)					2	7.4
47,XY,t(9;22)(q34.1;q11.21)					1	3.7
46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[5]					1	3.7
46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)					2	7.4
46,XY,t(9;22)					1	3.7
46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[2]					1	3.7
46,XY,t(9;22)(q34;q11)[4]/46,XY[1]						3.7
46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[4]						
46,XY,t(9;22)(q34;q11)[2]/46,X,-Y,t(9;22)(q34;q11)[3]						
46,XY[1]/45,X,-Y[1]/46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[3]						
46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[4]/46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[1]						
46,XY,t(9;22)(q34;q11)[3]/45,XY,idem,-18[1]/43,XY, idem,-1,-12,-18[1]					1	3.7
46,XY,t(9;22)(q34.1;q11.2)[1]/45,XY,-7[1]/46,XY[1]/ 46,XY,+7,-18[1]					1	3.7
46,XY,t(9;22)(q34;q11)[2]/45,X,-Y,t(9;22)(q34;q11)[1]/ 43,XY,-1,-11,-18,t(9;22)(q34;q11)[1]					1	3.7
46,XY,t(9;22)(q34;q11)[1]/45,XY,-7[1]/46,X,+8,-Y[1] /43,XY,-1,-12,-17[1]					1	3.7
46,XY,t(9;22)(q34.1;q11.21)[2]/45,X,t(9;22)(q34.1; q11.21)[1]/43,XY,t(9;22)(q34.1;q11.21),-1,-11,-18[1]					1	3.7
45,X,-Y,t(9;22)(q34;q11)[2]/46,X,+X,-Y,t(9;22)(q34; q11)[1]/46,XY,t(9;22)(q34;q11)[1]/46,XY[1]					1	3.7

*M : Modal chromosome number,

A : Recognition of abnormalities,

**□ : Not graded,

[2] : Acceptable performance,

S : Sex chromosome designation

N : Karyotype nomenclature

[1] : Good performance,

[3] : Unacceptable performance

이상의 의견일치”를 얻지 못하였으며 따라서 grading에 의한 평가는 하지 않았다. 다만, 각 검사기관이 결과로 적어보낸 핵형의 명명법에서 많은 오류가 관찰되었는데 이러한 명명법상의 오류들은 개별 결과분석 결과지에 기록하고 교정하여 교육의 기회로 삼고자 한다.

처음으로 준비한 염색체검사의 정도관리 물질은 분열중기세포 사진의 해상도 및 질(quality)이 좋지 않았고, 또 한 환자에서 여러 장의 좋은 사진을 얻기 어려워 조합을 하게 되었는데, 그로 인한 실수가 인정된다. 좋은 증례를 모아 정도관리 물질을

만드는데 각 검사실의 적극적인 협조가 요망된다.

요 약

진단유전학분과에서는 1997년에 두 차례의 설문조사를 통하여 국내 진단유전학검사의 현황을 알아보았고, 그에 따라 제 1차 염색체검사의 외부정도관리 물질을 30기관에 발송하였다. 현재 검사를 실시하고 있는 검사실에서는 검사의 표준화 및 정도관리의 필요성을 인식하고 참여에 적극 찬성하였다.

염색체검사의 신빙도조사는 3개 증례의 분열증기세포의 사진으로 혼형분석을 하는 형태였는데 다수의 검사실에서 좋은 결과를 보내주었고 단지 일부 검사실에서 비정상적인 염색체의 확인과 명명법에 잘못된 결과를 보냈다. 처음 시도되는 정도관리 프로그램이어서 몇 가지 문제점이 노출되었지만 비교적 순조롭게 진행되었고, 이를 적절히 이용하면 국내 염색체 검사실의 질적 향상에 큰 도움이 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Mitelman F. ISCN (An International System for Human Cytogenetic Nomenclature) 1995. Basel: S. Karger, 1995:1-114
2. ACMG/CAP Cytogenetics Survey: Participant summary