

단일클론항체를 이용한 면역진단법의 연구* - Flow Cytometry에 의한 세포표면 표현형 검사 -

이화여자대학교 의과대학 임상병리과
홍 기 숙

= Abstract =

The Study of the Immunoassay by the Monoclonal Antibody - Flow Cytometry for Cell Surface Phenotyping -

Ki Sook Hong

Department of Clinical Pathology, College of Medicine, Ewha Womans University

With the development of monoclonal antibodies, they have various utilities for in-vitro diagnosis in differentiating tumor cell type, and for therapeutic purposes. I experimented the reaction of many leukemic cells, hematopoietic and nonhematopoietic cells with many known and new monoclonal antibodies using flow cytometry.

The results are as follows :

1) There were 18 cases of B-lineage Acute lymphoblastic leukemia(ALL)(64%), 8 cases of T-lineage ALL(28%), 1 case of B-myeloid ALL(4%) and 1 case of B cell ALL(4%) in 28 cases of ALL.

2) The reactions with anti-CD9, CD10, CD19, CD24, CD34, CD72 and HLA-DR were positive in most cases of non-T-ALL, and the reaction with anti-CD13, CD33, CD40 were relatively positive in a few cases of non-T-ALL.

3) The reaction with anti-CD24, CD19, CD20, CD72 and HLA-DR was strong positive in 1 case of Hairy cell leukemia(HCL).

4) There were 17 cases of B-Chronic lymphocytic leukemia(CLL)(71%), and 4 cases of T-CLL(17%) in 24 cases of CLL.

5) There were 8 cases of B- non Hodgkin's malignant lymphoma(NHL)(57%), and 4 cases of T-NHL(29%) in 14 cases of NHL.

6) There were positive reaction with anti-CD2 in normal bone marrow, fetal bone marrow with anti-CD19, tonsil with anti-CD4, anti-CD19, and thymus with anti-CD2.

Immunophenotype with panel of monoclonal antibodies using flow cytometry is very helpful to take diagnosis and treatment for hematologic malignancies.

*본 논문은 1990년도 대학교수 국비해외파견연구비에 의해 이루어 졌음.

서 론

Human leukocyte에서 세포 항원에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있으며 현재까지 78개의 CD (cluster designation)이 보고 되고 있다¹⁾²⁾.

또한 각각의 항원에 대한 단일클론항체(monoclonal antibody)의 개발로 다량의 단일클론항체를 생산할 수 있어서 백혈병 및 임파종의 진단과 치료 및 예후 추정 연구에 많은 도움을 주고있다. 국내에서도 백혈병진단을 위한 단일클론항체가 사용되고 있고, 각 기관 나름으로 10여개 정도의 단일클론항체조합을 이용하여 백혈병 및 임파종의 진단에 사용하고 있다³⁻⁹⁾.

단일클론항체를 이용한 세포표면 표지자 검사로는 형광현미경을 이용한 면역형광검사가 가장 많이 이용되고 있다. 최근 flow cytometry를 이용한 분석으로 좀더 객관화된 검사결과를 얻을 수 있게

되었으며, 국내에서도 현재까지 30대이상의 flow cytometry가 보급되어 혈액질환의 면역표지자검사, DNA분석, reticulocyte검사 및 연구 등에 이용하고 있다.

이에 저자는 여러 종류의 단일클론항체를 사용하여 혈액종양세포들과 반응 시켜서 flow cytometry를 이용하여 분석하였기에 이에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1990년 7월부터 1991년 6월까지 1년간 미국 미네소타 대학병원 세포표지 검사실에 보내어진 백혈병과 악성임파종 환자검체 및 정상골수, 태아골수, 편도선, 흉선, 태아간장, 비장 등 총 88예를 대상으로 하였다.

백혈병 진단은 골수아세포의 형태학적, 세포화학적, 세포표지검사에 의하였다. 정상 골수 및 no-

Table 1. Monoclonal antibodies used for immunophenotyping

| CD | Used antibody(similar antibody) | Specificity |
|------|--|---|
| CD2 | 9.6(OKT 11, T11, Leu-5) | Pan-T lymphocyte(sheep erythrocyte receptor) |
| CD3 | G19.4(OKT-3, T3, Leu-4, UCHT1) | Pan-T lymphocyte(mitogen) |
| CD4 | G17.2(OKT 4, T4, Leu-3) | T helper/inducer |
| CD5 | Leu-1(T1, T101) | T-cell ALL, B cell ALL |
| CD7 | Leu 9(3A1, WT1, 4A) | T-cell ALL |
| CD9 | BA-2(SJ-9A4, Du-ALL-1) | Lymphohematopoietic bone Marrow Progenitor cell, most non-T-ALL |
| CD10 | BA-3, 24.1, J5(CALLA) | ALL, Lymphoma |
| CD13 | My7 | Myeloid, monocyte |
| CD14 | UCHM1(MY4) | Myeloid, monocyte |
| CD19 | B43(B4, Leu 12) | B lymphocyte, malignant B cell |
| CD20 | 2H7(B1) | B lymphocyte, malignant B cell |
| CD22 | G28. 7(HD 6, HD 39, 29-110, SHCL-1, SJ10-1H11) | 75% of B lymphocytes most malignant B cell |
| CD24 | BA-1 | B lymphocyte, granulocytes malignant B cell |
| CD33 | My9 | Myeloid, monocyte |
| CD34 | HPCA-1 | Myeloid progenitors |
| CD36 | 5F1 | Monocyte, platelet |
| CD40 | G28.5 | B lymphocyte, monocyte |
| CD45 | 9.4 | Leukocyte |
| CD72 | J3-109 | B lymphocyte |
| - | HB1a | HLA-DR, Ia-like antigen |

CD : cluster designation

nhematopoietic 검체들은 외과용 검체로 부터 얻었다.

사용한 단일클론항체들은 Uckun 교수의 검사실에서 얻을 수 있는 항체들을 사용하였고 이는 Table 1과 같다.

Flow cytometry를 위한 조작은 각 튜브에 0.25-1 × 10⁶ 세포를 넣고 2.5% calf bovine serum (CBS) /phosphate buffered saline (PBS)용액으로 2회 닦는다.

Table 1에 있는 단일클론항체들을 넣고 4°C에서 1시간 항온후 2.5% CBS/PBS용액으로 2회 닦아준다. 제 2 항체로는 fluorescence isothiocyanate(FITC)-labeled goat F(ab')₂ antimouse immunoglobulin (Becton Dickinson)을 각 튜브당 4μl씩 사용하였다. 4°C에서 30분간 항온후 2.5% CBS/PBS로 3회 세척한다.

이중염색을 위해서 세포들을 단일클론항체와 작용시킨후 1시간 4°C에서 항온후 2번세척후 FITC-

conjugated goat anti-mouse Ig(Becton Dickinson)과 30분간 냉장고에서 반응 시킨다. 2.5% PBS/CBS로 세척후 MsIgG(Coulter Co.)를 넣고 10분간 4°C 암실에서 항온 한다. 그런후 세포들을 phycoerythrin (PE) conjugated 단일클론항체들과 냉장에서 30분간 반응 시킨후 3회 씻어준다. 비염색검체를 음성 대조군으로 한다. FACS Star Plus(Becton Dickinson Co.)로 분석하였다. FITC와 PE의 excitation을 위해 argon laser(400MW, 488nm)를 이용하였다. Fluorescence emission은 FITC는 530±15nm, PE를 위해서는 575±12.5nm를 사용하여 검출하였다. Forward scatter와 90° scatter를 해서 FITC와 PE의 contour를 display한다.

단일염색의 경우 II quadrant의 %를 읽고, 이중염색의 경우 I quadrant ; PE 양성, II quadrant ; PE 양성 및 FITC 양성, III quadrant ; PE 및 FITC 음성, IV quadrant ; FITC 양성 %를 나타낸다. 20% 이상을 양성으로 하였다.

Table 2. Classification of ALL

| Classification | Case No. (%) | Markers | | | |
|----------------|-----------------|---------|-----|---|----|
| | | B | Sig | T | My |
| B-lineage | 18(64) | + | - | - | - |
| T-lineage | 8(28) | - | - | + | - |
| B-myeloid | 1(4) | + | - | - | + |
| B cell | 1(4) | + | + | - | - |

B ; B-lineage antigen(CD19), T ; T-lineage antigens(CD2, CD5), M ; Myeloid antigen(CD13), Sig ; Surface immunoglobulin

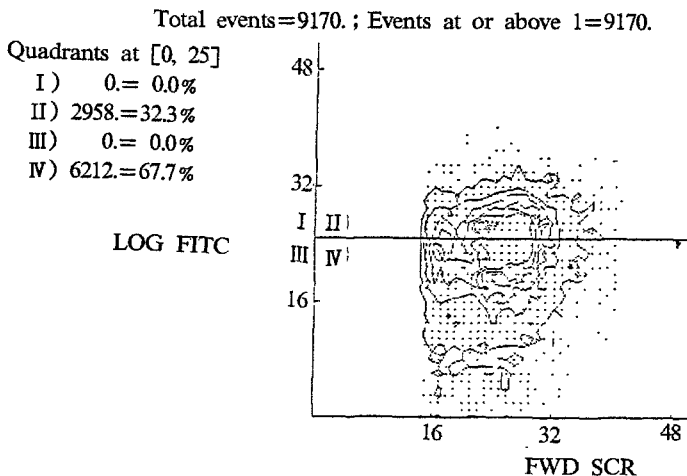


Fig. 1. Expression of anti-B43 FITC in B-ALL cells.

결 과

Sobol등²⁰⁾에 의한 분류로 acute lymphoblastic

Table 3. Expression of markers in non T-ALL

| Marker | No. of +case/Total case(%) |
|-----------|----------------------------|
| unstained | 0/20 (0) |
| E-rosette | 0/5 (0) |
| CD2 | 0/20 (0) |
| CD3 | 0/2 (0) |
| CD4 | 0/20 (0) |
| CD5 | 0/20 (0) |
| CD7 | 0/20 (0) |
| CD9 | 6/6 (100) |
| CD10 | 18/20 (90) |
| CD13 | 1/20 (5) |
| CD14 | 0/20 (0) |
| CD19 | 20/20 (100) |
| CD24 | 19/19 (100) |
| CD33 | 1/20 (5) |
| CD34 | 17/20 (85) |
| CD36 | 0/20 (0) |
| CD40 | 8/20 (40) |
| CD45 | 2/15 (13) |
| CD72 | 7/13 (54) |
| HLA-DR | 7/7 (100) |

leukemia(ALL) 28예를 분류해 본 결과 B-lineage가 18예로 64%, T-lineage가 8예로 28%, B-myeloid와 B-cell이 각각 1예로 4% 이었다. B-lineage에는 CALLA 양성인 14예로 78%, CALLA 음성이 2예로 28%를 나타냈다(Table 2).

B-myeloid ALL은 anti-CD13와의 반응이 54%, anti-CD33에서 28%의 FITC양성을 보였다.

Non T-ALL 20예를 18개의 단일클론항체와 반응시킨결과 anti-CD9, CD10, CD19, CD24, CD34, CD72 및 HLA-DR에서 강한 양성을 보였고, anti-CD13, CD33, CD40에서도 적은수에서 양성을 나타내었다(Fig. 1). E-rosette, anti-CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD14, CD36에서 음성을 보였다(Table 3).

기타 혈액질환 및 nonhematopoietic 세포들에서 몇가지 단일클론항체들과의 반응을 보면 다음과 같다(Table 4).

1예의 HCL은 anti-CD24, CD19, CD20, CD72, HLA-DR등에 양성을 나타내었고(Fig. 2), AML 8예중 2예에서 anti-CD19, anti-CD4에 약하게 양성을 보였으며, 24예의 CLL중 17예(71%)에서 anti-CD19에 양성하였고, 4예(17%)에서 anti-CD4 양성을 보였고(Fig. 3), NHL 14예중 8예에서 anti-CD19양성이었고 4예가 anti-CD4 양성이었다(Fig. 4).

NBM 2예와 FBM 2예에서 NBM 1예가 anti-CD2,

Table 4. Expression of CD2, CD4, CD19, CD45, and CD72 in hematologic malignancy, hematopoietic cells, and nonhematopoietic tissues

| Case(No.) | Markers | | | | |
|-----------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | CD2 + case/total (%) | CD4 + case/total (%) | CD19 + case/total (%) | CD45 + case/total (%) | CD72 + case/total (%) |
| HCL(1) | 0/1(0) | 0/1(0) | 1/1(100) | 0/1(0) | 0/1(0) |
| AML(8) | NT | 2/8(25) | 2/8(25) | 0/2(0) | 0/2(0) |
| CLL(24) | 0/4(0) | 0/24(17) | 17/24(71) | 5/11(45) | 2/12(17) |
| NHL(14) | NT | 4/14(29) | 8/14(57) | 3/6(50) | 2/6(33) |
| NBM(2) | 1/1(100) | 0/2(0) | 0/2(0) | NT | NT |
| FBM(2) | NT | NT | 2/2(100) | NT | NT |
| Tonsil(3) | NT | 1/2(50) | 2/3(67) | NT | 1/1(100) |
| Spleen(1) | NT | 0/1(0) | 0/1(0) | 0/1(0) | 0/1(0) |
| Thymus(4) | 4/4(100) | NT | 0/4(0) | NT | NT |
| FL(1) | 0/1(0) | 0/1(0) | 0/1(0) | NT | NT |

HCL ; Hairy cell leukemia, AML ; Acute myeloblastic leukemia, CLL ; Chronic lymphocytic leukemia, NHL ; Non-Hodgkin's malignant lymphoma, NBM ; Normal bone marrow, FBM ; Fetal bone marrow, FL ; Fetal liver, NT ; not tested

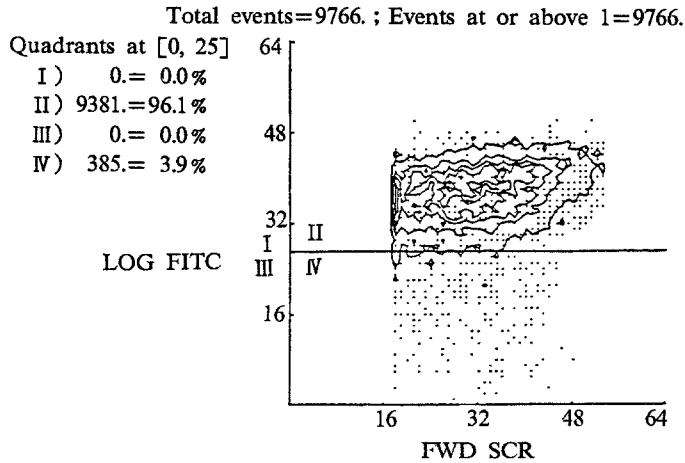


Fig. 2. Expression of anti-B43 FITC in HCL cells.

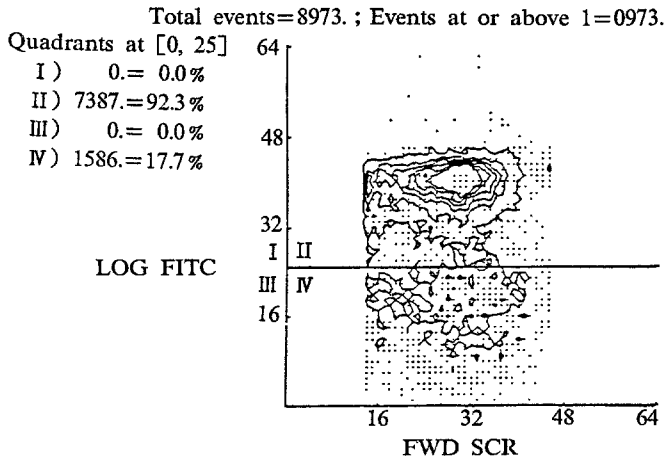


Fig. 3. Expression of anti-B43 FITC in CLL cells.

FBM 2예가 anti-CD19에 양성을 보였고, tonsil 3예중 2예(67%)에서 anti-CD19 양성, anti-CD4와의 반응은 1예에서 약한 양성(26%)을 보였으며 spleen와 fetal liver 각 1예에서 anti-CD19, CD4 반응은 음성이었고, 4예의 thymus에서 anti-CD2에 모두 양성을 나타냈다.

각 세포들에서의 CD45와 CD72의 반응은 다양하였다.

고 안

면역표현형검사, 세포유전자검사와 DNA 분석²¹⁻²⁶⁾ 등의 방법을 이용해서 정상 및 암종 lympho he-

matopoietic 세포들의 성격이 분명해졌다. 특히 면역표현형검사는 단일클론항체의 출현으로 유용하게 쓰이고 있다. 현재까지 human leukocyte에 대한 수많은 단일클론 항체가 보고되고 있으며, 3차 International workshop에서 78개의 CD(cluster designation)가 보고 되고 있다¹⁾²⁾.

면역표현형검사에 흔히 사용되는 방법으로는 면역형광법, 면역조직화학법, microtoxicity, rosetting 방법이 흔히 사용되어 왔다. 세포표면항원의 검출에는 면역형광을 이용한 flow cytometry 방법이 가장 예민하다²⁾²⁷⁾. 면역형광현미경법과 flow cytometry 방법 사이에는 일반적인 일치를 보여주고 있고¹⁾²⁾ Sobol등²⁰⁾에 의하면 약하게 표현되는 항원은

Total events=9526 ; Events at or above 1=9526.

Quadrants at [27, 24]

- I) 2045.=21.5%
- II) 4131.=43.4%
- III) 1944.=20.4%
- IV) 1406.=14.8%

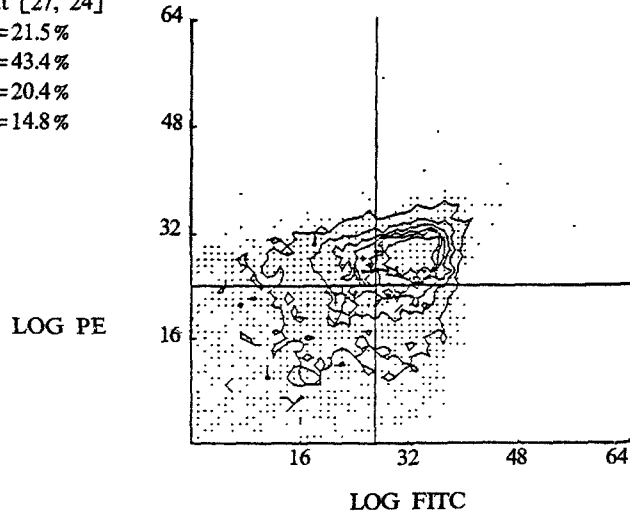


Fig. 4. Two color immunofluorescence staining in malignant lymphoma cells(FI FITC×B43 PE).

flow cytometry에서 좀더 신뢰성 있게 검출될 수 있다고 하였다. 면역형광현미경을 이용한 방법으로는 200개에서 500개의 골수아구를 세어 그중 면역형광을 발하는 골수아구세포의 수를 백분율로 나타내어 양성과 음성을 구분하였으나 flow cytometry는 세포들의 입자를 부유상태로 하여 고속으로 유체계를 통과시켜 laser광으로 그광학적 정보를 신속하게 정량적으로 측정하는 장치로 짧은 시간에 10,000개에서 20,000개의 많은 세포를 세어 면역형광을 발하는 세포의수, 및 백분율 그리고 histogram등을 볼 수 있어 종래의 면역표지검사를 더욱 개관화하게 되었다. 표면표지자 검사결과 형광을 발하는 세포가 대조군보다 얼마나 증가하여야 양성으로 정할것인가에 대한 기준은 명확하게 정해진것은 없지만 대개의 경우 20%를 그 기준으로 삼고 있다. 본 연구에서도 20% 이상을 양성으로 하였으며, 분석한 세포수는 10,000개 전후였다.

면역표현형검사에 대한 국내의 동향을 보면 주로 급성림파구성 백혈병의 아형분류에 많이 사용하고 있고 그외에도 급성골수구성 백혈병, 만성림파구성 백혈병, 악성 림파종등의 혈액학적 질환의 분류에 주로 사용하고 있다³⁻¹⁹⁾. 단일클론항체의 수는 백혈병진단에 7 종류 부터 10여가지 까지 사용하고 있으며, 점차 증가하고 있는 추세이다. 분석방법도 주로 형광현미경을 이용하고 있으며 소수의 병원

에서 flow cytometer를 이용하여 분석하고 있다¹⁷⁾. 대부분 FITC로 표지하고 있으며 김등에 의해 FITC와 PE를 표지하여 T세포의 subset 연구에 이용되고 있다⁹⁾.

B-림파구와 반응하는 항체들은 20종 이상으로 이에 anti-CD24, CD20, CD21, CD19, CD22, CD23, PCA-1, PC-1등이 있고, T-림파구에 반응하는 항체로는 anti-CD5, CD3, CD6, CD2, CD7, CD4, CD8, CD1, CD25, CD28, 5/9, Leu8, CDw29들이 보고되고 있다. 백혈병에 동반된 항원에대한 항체로는 anti-CD10, CD9들이 있고 그외에도 공인되지 않은 많은 단일클론항체들이 있다¹⁾²⁾²⁷⁾²⁸⁾.

ALL과 acute non lymphocytic leukemia(ANLL)의 구분은 임상적으로 적절한 치료를 선택하는데 필요하다. 대부분의 경우 세포의 형태와 세포화학적 염색으로 구분이 가능하지만 ANLL의 20%에서 세포화학적염색이 음성이다²⁹⁾. Chan 등³⁰⁾은 100명의 급성백혈병을 구분하는데 있어서 면역표현형 검사를 사용하였다. 면역검사결과는 최종 진단을 하는데 있어서 19%, 78%에서 확정된 정보를 제공하는데 있어서 필요하다고 보고하고 있다.

ALL의 분류에는 Foon²⁸⁾ 및 Sobol²⁰⁾ 등의 분류가 있으나 본 연구에서는 Sobol의 분류를 사용하여 ALL 28예를 분류한 결과 B-lineage가 18예로 64%, T-lineage가 8예로 28%, B-myeloid와 B-cell이 각각

1예로 4%를 보여 다른 연구들과 유사한 결과를 보였다. 단일클론항체의 발달과 면역글로부린 염색체 재배열에 따라 non T-ALL의 대부분은 B-lineage에서 부터 발생한다고 한다²⁸⁾. Nadler 등³¹⁾에 의하면 non T-ALL을 4가지 그룹으로 나누었고, Foon 등²⁸⁾은 Ia, anti-B4, anti-CALLA, anti-B1, cytoplasmic μ , surface 면역글로불린을 기준으로 해서 6가지로 분류하였다. 이중 anti-B1(CD20)과 anti-B4(CD19)은 가장 대표적인 것이며 각각의 CD 그룹은 각각의 연구실에서 만든 이름을 가지고 있다. 본 연구에서도 anti-CD19의 새로운 항체인 anti-B43를 사용하였다³²⁾.

HCL은 B임파구의 단일클론증식으로서 pan-B세포 항체들과의 양성반응으로 CLL과 구별할 수 있다고 하였다. Anderson 등³³⁾과 Divine³⁴⁾등에 의하면 B1과 PCA-1 두개의 표지를 이중형광법으로 확인하였다. 본 연구에서도 anti-CD19, CD20, CD24, CD72, HLA-DR에 강한 양성을 보였다.

CLL은 SmIg양성 임파구의 단일클론항체 증식으로서 B-CLL은 mouse erythrocyte receptor 양성, IgG와 C'의 Fc portion에 대한 receptor, Ia, BA1, B1, B2, B4등에 양성을 보인다²⁷⁾. CLL의 5% 정도에서 T-cell의 악성증식으로 helper와 suppressor 표면표지자를 가진다. 본 연구에서 17예에서(71%) anti-CD19 양성이었다고, 17%에서 anti-CD4 양성을 나타냈다.

또한 NHL의 세포들과 단일클론항체들과의 반응을 flow cytometry로 분석한 결과와 면역조직화적분석은 80~90%에서 좋은 일치율을 보이고 있어서 진단에 크게 도움이 되고 있다³⁵⁾. 본 연구의 14예의 NHL는 anti-CD4에 29%를 anti-CD19에 57%의 양성을 나타내고 있다. B임파종은 anti-CD20, CD19과 SIg과의 반응이 특징적이며, T임파종은 흔히 T4의 표지를 보이지만 다양하다고 한다³⁶⁾³⁷⁾. CD45는 leukocyte common antigen으로서 정상 및 악성백혈구에 존재하며 nonleukocyte에는 존재하지 않는다. 따라서 NHL와 암종 및 육종을 구별하는데 유용하다고 한다. 본 연구에서 anti-CD45에 대한 양성율이 낮은 것은 항체의 역가가 떨어졌기 때문이라 생각된다.

NBM와 FBM에와의 반응에서 NBM가 anti-CD2와 FBM가 anti-CD19과의 반응을 보인것은 Caldwell

등에 의한 결과와 유사하였다³⁸⁾.

단일클론항체 조작중 주의할 점은 첫째, 같은 항체라 하더라도 보관조건에 따라서 역가가 많이 달라지는 것을 경험하여 항상 항체를 쓸때는 음성 및 양성대조군을 세우는 것이 필수적이었다. 또한 동일한 CD라도 여러가지 단일클론항체가 있으므로 그항체와의 반응이 차이가 있을 수 있다. 둘째, 세포의 viability를 반드시 검사해서 적어도 80% 이상을 유지해야만 정확한 결과를 얻을 수 있었다.

결론적으로 급·만성 백혈병, 임파종, 혈액악성 질환의 진단에 형태학적, 세포화학분석과 더불어서 단일클론항체와 flow cytometry를 사용할 경우 짧은 시간내에 객관적이고 정확한 진단을 내릴 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

단일클론항체를 진단 및 치료에 이용하는 연구가 활발하게 이루어지고 있는 이때에 저자는 Minnesota 대학병원에서 1년간 급성 및 만성 백혈병, 악성임파종, 기타 혈액종양세포들 및 태아 및 정상 골수, 편도, 비장, 흉선과 태아간장 세포들과 여러 종류의 단일클론항체를 이용하여 flow cytometry로 분석하였기에 이에 보고하고자 한다.

1) 28예의 급성림프구성백혈병을 분류해보면 B-lineage가 18예로 64%, T-lineage가 8예로 28%, B-myeloid와 B-cell이 각각 1예로 4%로 분류되었다.

2) Non-T-급성림프구성백혈병 세포들은 다수에서 anti-CD9, CD10, CD19, CD24, CD34, CD72, 및 HLA-DR에서 강한 반응을 보였고, 소수의 예에서 anti-CD13, CD33, CD40에서 약한 양성을 나타냈다.

3) HCL 1예에서 anti-CD24, CD19, CD20, CD72, HLA-DR에 강한 양성을 나타냈다.

4) 24예의 CLL중 B-CLL이 71%, T-CLL이 17%였다.

5) NHL 14예중 B-NHL가 57%, T-NHL가 29%였다.

6) NBM, FBM, tonsil, spleen, thymus, fetal liver의 정상조직으로 부터 얻은 세포들과의 반응에서 NBM가 anti-CD2와, FBM가 anti-CD19과, tonsil이

anti-CD4 및 CD19과 thymus가 anti-CD2와 반응을 나타냈다.

이상의 결과를 종합해볼때 혈액악성종양의 진단 시 형태학적, 세포화학적 분석과 더불어서 적절한 조합의 단일클론항체를 사용할경우 객관적이고 정확한 진단을 내릴 수 있어서 치료 및 예후 판정에 많은 도움이 될 수 있을것이다.

<필자를 미국 미네소타 의과대학 객원교수로 초청해 주신 미네소타 의과대학의 송창원 교수님과, 본 연구를 위해 값비싼 많은 항체들, 귀한 검체, flow cytometry 분석을 할 수 있도록 배려해 주고, 많은 조언을 해준 tumor immunology laboratory의 Fatih M. Uckun 교수에게 감사를 드립니다.>

References

- 1) McMichael AJ : *Leukocyte typing III : White cell differentiation antigens*. New York : Oxford university press, 1987 : pp302-334
- 2) Melamed MR, Lindmo T, Mendelsohn ML : *Flow cytometry and sorting*. 2nd ed. New York : Wiley-Liss, 1990 : pp669-725
- 3) 권계철 · 구선희 : 급성 임파구성 백혈병의 면역학적 분류 및 예후에 관한 연구. 대한임상병리학회지 1990 : 10 : 141-147
- 4) 김길영 · 박숙현 · 강신혜 등 : 소아 급성 임파구성 백혈병에서 면역표현형에 따른 분류 및 그에 따른 임상학적 소견과 예후에 관한 연구. 대한혈액학회지 1991 : 26 : 31-39
- 5) 김백수 · 송경순 · 이삼열 등 : 급성 백혈병 52예의 면역학적 분류 및 고찰. 대한임상병리학회지 1991 : 11 : 357-379
- 6) 김선희 · 조한익 · 김상인 : 단세포군 항체 CALL 1의 특성에 관한 연구. 대한혈액학회지 1986 : 21 : 7-15
- 7) 김선희 · 민원기 · 조한익 · 김상인 : 혼합형백혈병 1예. 대한임상병리학회지 1985 : 5 : 99-104
- 8) 김신규 · 이영옥 · 전경소 등 : Immunophenotyping panel을 이용한 백혈병의 면역학적진단 I. 대한임상병리학회지 1989 : 9 : 199-205
- 9) 김신규 · 이영옥 · 이원태 · 김춘원 : 이중면역형 광법에 의한 T, B 세포와 T4, T8 세포의 동시 측정에 대한 경험. 대한임상병리학회지 추계학술대회초록. 1987
- 10) 김은숙 · 김신규 · 최태열 · 정화순 : 각종 질환에서의 T, B 세포 및 Th/Ts세포 검사의 의의. 대한임상병리학회지 1991 : 11 : 171-182
- 11) 김계식 : 말초혈액 림프구 Immunophenotyping. 대한임상병리학회지 1991 : 11 : 231-232
- 12) 박명희 · 오원일 · 강희정 등 : 급성골수구성 백혈병의 세포표지에 관한 연구. 대한혈액학회지 1991 : 26 : 253-261
- 13) 서인석 · 조덕연 · 강원권 등 : 급성림프구성 백혈병의 면역학적 분류 및 림프아세포의 시험관내 분화 유도에 관한 연구. 대한혈액학회지 1988 : 23 : 381-391
- 14) Cho HI, Kim SI : *Sequential immunogold and cytochemical staining for classification of acute lymphoblastic leukemia*. 대한혈액학회지 1986 : 21 : 177-180
- 15) 안효섭 · 하일수 · 김순기 · 이환준 · 홍창의 : 소아 백혈병의 빈도에 관한 고찰. 소아과 1988 : 31 : 841-848
- 16) Cho HI, Park MH, Kim SI, et al : *Immunological classification of acute lymphoblastic leukemia in Korea*. Seoul J Med 1987 : 28 : 109-114
- 17) 진동규 · 김창수 · 석준 · 조재연 · 이형호 · 권계철 : Flow cytometry로 진단된 acute undifferentiated leukemia 1예. 대한혈액학회지 1991 : 26 : 419-423
- 18) Cha YJ, Cho HI : *Prognostic evaluation of acute lymphoblastic leukemia by immunologic markers*. Seoul J Med 1987 : 28 : 115-124
- 19) 최성동 · 정대철 · 최우건 · 김학기 · 이경수 : Hybrid leukemia 2예. 소아과 1991 : 34 : 130-136
- 20) Sobol RE, Bloomfield CD, Royston I : *Immunophenotyping in the diagnosis and classification of acute lymphoblastic leukemia*. Clin Lab Med 1988 : 8 : 151-162
- 21) Urba W, Longo D : *Cytologic, immunologic and clinical diversity in non-Hodgkin's lymphoma : therapeutic implication*. Semin Oncol 1985 : 12 : 250-267
- 22) Ballieux R, Heynen C : *Immunoregulatory T cell subpopulations in man : Dissection by monoclonal antibodies and Fc-receptors*. Immunol Rev 1983 : 74 : 5-24
- 23) Lanier L, Engelman E, Galentry P, et al : *Correlation of functional properties of human lymphoid cell subsets and surface marker phenotypes using multiparameter analysis and flow cytometry*. Immunol Rev 1983 : 74 : 143-160
- 24) Bloomfield C, Goldman A, Alimena G, et al : *Chro-*

- mosomal abnormalities identify high risk and low risk with acute lymphoblastic leukemia. Blood 1986 : 67 : 415-420*
- 25) Crist W, Bross C, Puller J, et al : *Immunologic markers in childhood acute lymphocytic leukemia. Semin Oncol 1985 : 12 : 105-121*
 - 26) Look T : *The emerging genetics of acute lymphoblastic leukemia : clinical and biological implications. Semin Oncol 1985 : 12 : 92-104*
 - 27) Keren DF : *Flow cytometry in clinical diagnosis. Chicago, ASCP, 1989 : 179-194*
 - 28) Foon KA, Todd RF : *Immunologic classification of leukemia and lymphoma. Blood 1986 : 68 : 1-31*
 - 29) Neame P, Soamboonsrup P, Browman G, et al : *Classifying acute leukemia by immunophenotyping : a combined FAB-immunologic classification of AML. Blood 1986 : 68 : 1355-1362*
 - 30) Chan LC, Pegram SM, Greaves MF : *Contribution of immunphenotype to the classification and differential diagnosis of acute leukemia. Lancet 1985 : 1(8427) : 475-479*
 - 31) Nadler LM, Korsmeyer SJ, Anderson KC, et al : *B cell origin of non T cell acute lymphoblastic leukemia : a model for discrete stages of neoplastic and normal pre-B cell differentiation. J Clin Invest 1984 : 74 : 332-340*
 - 32) Uckun FM, Jaszcz W, Ambrus JL, et al : *Detailed studies on expression and function of CD19 surface determinant by using B43 monoclonal antibody and the clinical potential of anti-CD19 immunotoxin. Blood 1988 : 71 : 13-29*
 - 33) Anderson KC, Boyd AW, Fisher DC, Lesile D, Schlossman SF, Nadler LM : *Hairy cell leukemia : A tumor of pre-plasma cells. Blood 1985 : 65 : 620-629*
 - 34) Divine M, Farcet JP, Gourdin MF, et al : *Phenotype study of fresh and cultured hairy cells with the use of immunologic markers and electron microscopy. Blood 1984 : 64 : 547-552*
 - 35) McMichael AJ, Fabre JW, ed : *Monoclonal antibodies in clinical medicine. New York, Academic press, 1982 : 130-165*
 - 36) Warnke R, Gatter K, Falini B, et al : *Diagnosis of human lymphoma with monoclonal antileukocyte antibodies. N Engl J Med 1983 : 309 : 1275-1281*
 - 37) Weiss LM, Crabtree GS, Rouse RV, Warnke RA : *Morphologic and immunologic characterization of 50 peripheral T cell lymphoma. Am J Pathol 1985 : 118 : 316-324*
 - 38) Caldwell CW, Poje E, Helikson MA : *B-cll precursors in normal pediatric bone marrow. Am J Clin Pathol 1991 : 95 : 816-823*