

# 림프절에 침윤을 보인 CD7, CD13, CD19 양성 급성 혼성 백혈병

-1에 보고-

조선대학교 및 전남대학교\* 의과대학 병리학교실

이 미 자 · 전 호 종 · 정 상 우\*

## Leukemic Infiltration of Acute Hybrid Leukemia with CD7+, CD13+ and CD19+ Immunophenotype in the Lymph Node

- A case report -

Mi Ja Lee, M.D., Ho Jong Jeon, M.D. and Sang Woo Juhng, M.D.\*

Department of Pathology, College of Medicine, Chosun University and Chonnam University\*

Acute hybrid leukemia is an uncommon disease that demonstrates malignant transformation expressing lymphoid and myeloid cell lineage.

We experienced a case of 25-year-old man with acute leukemia with unusual characteristics: unclassifiable morphology and undifferentiated cytochemistry by French-American-British (FAB) criteria. Microscopically, it disclosed monotonous tumor cell population in lymph node with vascular plugging and perivascular infiltration, and indian file appearance in capsule and surrounding adipose tissue. Results of flow cytometry and immunohistochemical studies of frozen sections, cytopins, and formalin fixed lymphoid tissues disclosed hybrid form characterized by myeloid and lymphoid cell lineage. The immunophenotype analysis showed both anti-T cell, anti-B cell and anti-myeloid cell monoclonal antibody reactivity; blast cells were consistently CD7+(94.6%), CD13+(97.1%), and CD19+(85.22%). The normal hematopoietic cells were almost replaced by tumor cells in PB and bone marrow.

In preparation of cytopsin of peripheral blood(PB) cells separated by a Ficoll-hypaque gradients, blast cells were negative for Sudan black B, myeloperoxidase, periodic acid Schiff, and non-specific esterase. (**Korean J Pathol 1994; 28: 191~199**)

**Key Words:** Hybrid leukemia, Lymphoma, Flow cytometry, Immunohistochemistry

### 서 론

급성 백혈병은 FAB분류법에 의해 세포의 형태학적 특징과 세포화학적 염색상에 따라 분류한다<sup>1)</sup>. 그러나

이들 검사만으로 분류가 불가능한 경우가 있으며 새로운 세포학적, 면역학적 및 분자생물학적 방법에 의하여<sup>2,3)</sup> 서로 다른 세포계열의 특징적 세포표면 항원이 함께 표현되는 골수성-림프구성 혼성 백혈병(Hybrid feature)을 보이는 예를 인식하게 되었다<sup>4-8)</sup>.

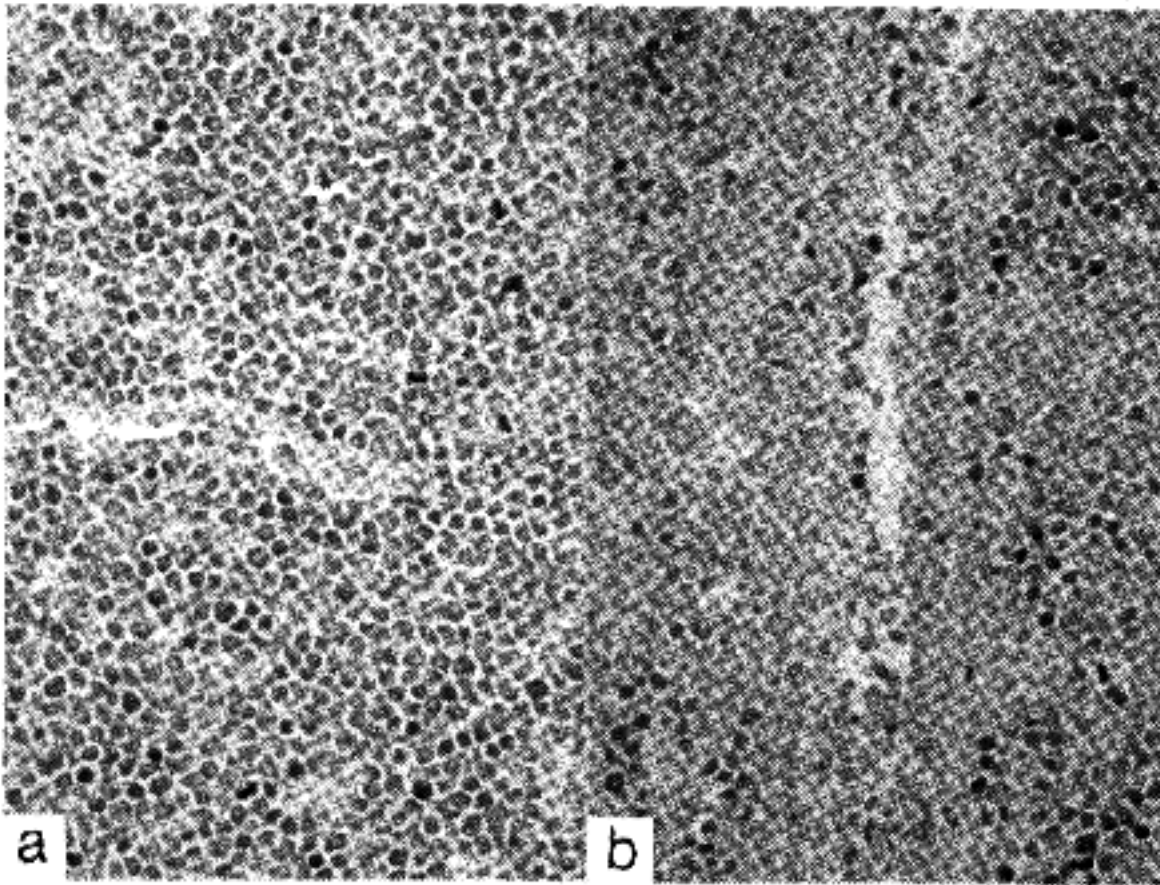
저자들은 최근 조선대학교 부속병원 내과에 입원한 환자에서 림프절에 침윤한 백혈병세포가 골수구와 림프구의 표지자를 동시에 표현하는 급성 혼성 백혈병 1 예를 경험하였기에 보고한다.

접 수: 1993년 10월 26일, 게재승인: 1994년 1월 6일  
주 소: 광주시 동구 서석동 588번지, 우편번호 501-140  
조선대학교 의과대학 병리학교실, 이미지자

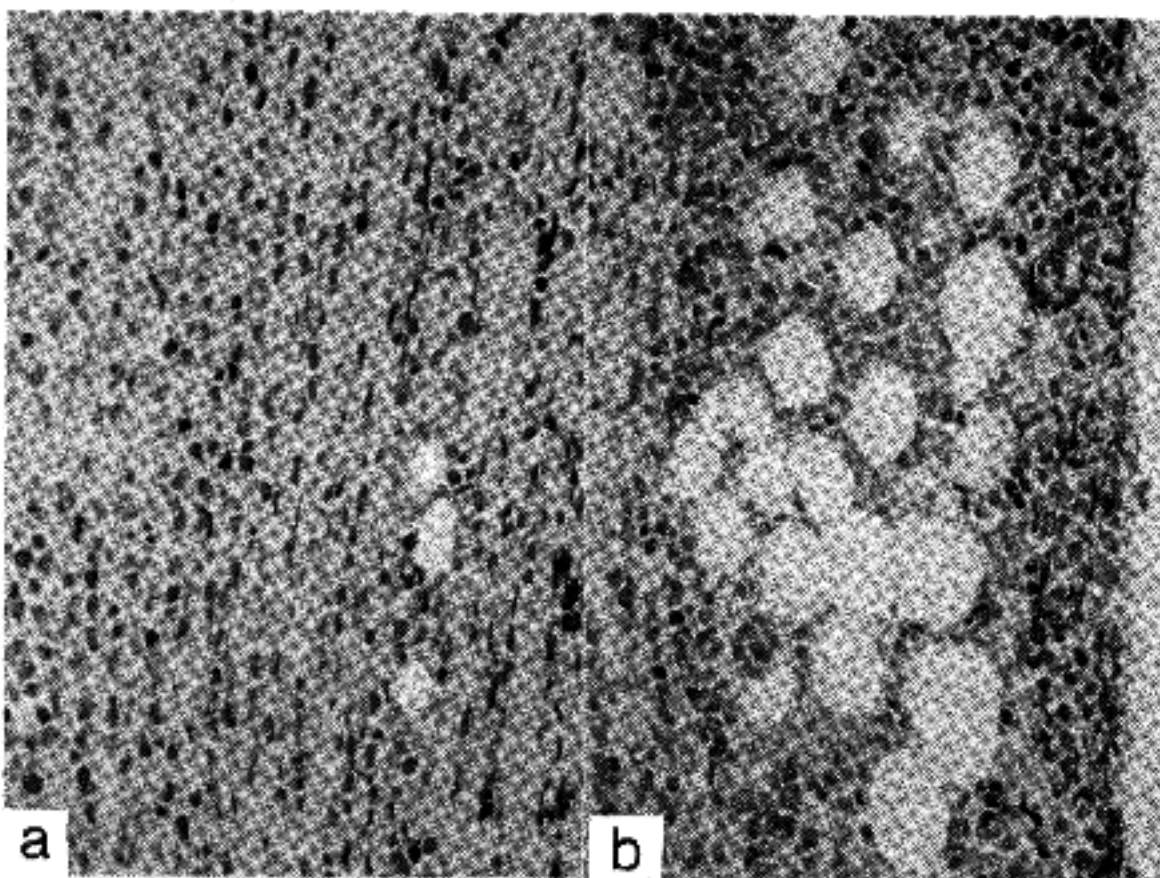
### 증 례

환자는 25세 남자로 내원 5개월전부터 좌측 경부에 림프절 종대 및 인후통이 발생하여 편도선염으로 진단 받은 후 치료하였으나 증상의 호전이 없이 또 병원에서 림프선 생검후 악성 림프종 진단하에 본원에 내원

하였다. 이하직 소견상 양측 쇄골 상외부에서 압통성의 림프절이 0.5~1×1 cm 정도로 좌측에서 4개, 우측에 3개 축지되었고 예외부에서는 압통성의 림프절이 3×5 cm 크기로 우측에서 2개, 0.5×1 cm 정도로 좌측에서 3개 축지되었다. 비장은 좌측 흉골 하연에서 5×7 cm 정도로 축지되었으며 갈소 혈에 소견상 적혈구 수 2,460,000/mm<sup>3</sup>, 혈색소 8.0 g/dl, 적혈구 용적



**Fig. 1.** Two morphologic subtypes are recognized; large cleaved cell and large non-cleaved cell with prominent nucleoli. Also often mitotic figures are seen(a). There are vascular plugging and perivascular infiltration by tumor cells (b).



**Fig. 2.** There are Indian file appearance of the tumor cells in capsule(a) and infiltration of surrounding adipose tissue(b).

22.2%, 백혈구 27,900/mm<sup>3</sup>(중성구 1%, 림프구 10%, 단핵구 1%, 혈구모세포 88%), 림소관 16,000/mm<sup>3</sup>이었고 말초 혈액 도말 표본상 조혈 세포가 아닌 혈구모세포가 85% 관찰되었다. 입원 당일부터 38.5℃의 고열이 있었으며 감염 병소는 찾을 수 없었다. 경부 림프절 생검과 골수 생검을 시행하였다. 환자는 진신 상태의 악화와 호흡 곤란, 완화되지 않는 고열과 복수등으로 인하여 입원 16일만에 사망하였다. 부검은

시행치 못하였다.

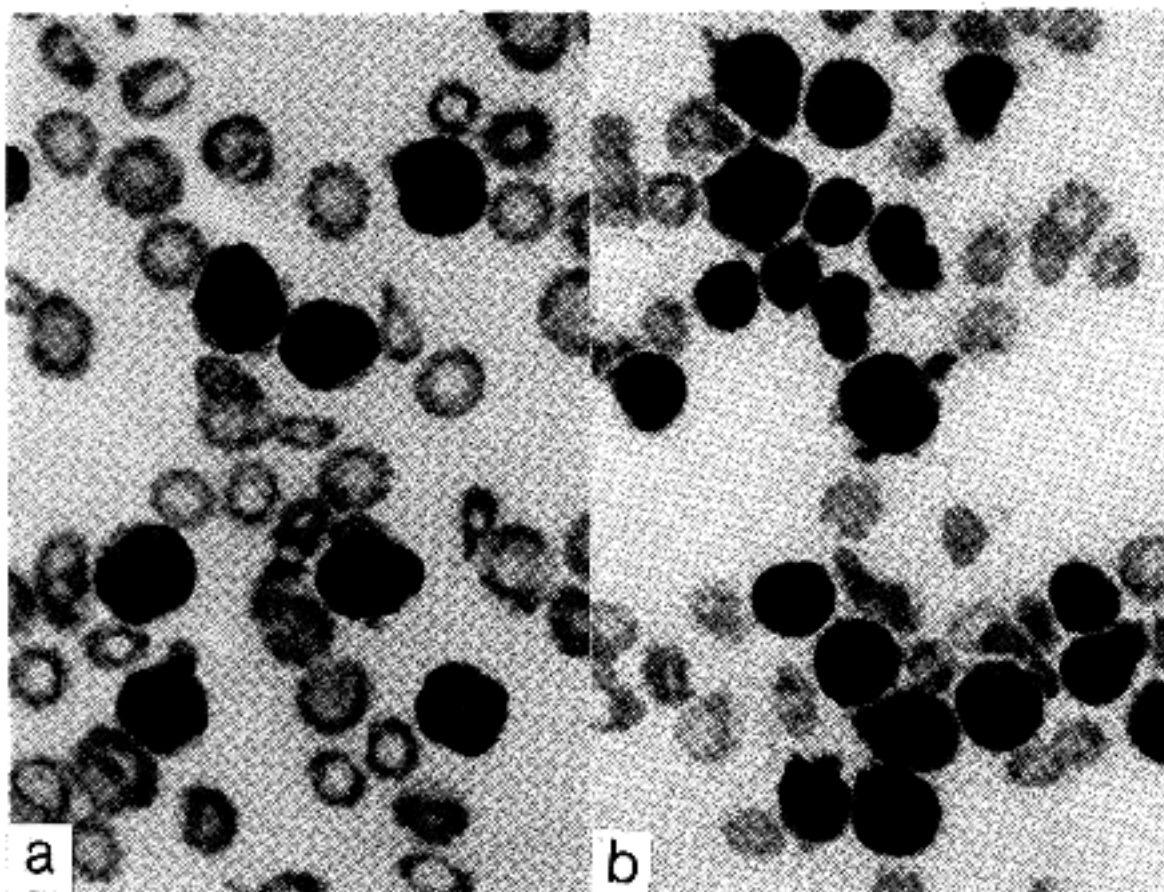
### 병리학적 검사 및 결과

#### 1. 림프절의 병리학적 소견

저출된 림프절은 1 cm 크기로 단단하였다. 10% 중성 원층성 포르말린에 4시간 고정하여 제작된 림프절의 광학 현미경적 소견상 림프절의 정상 구조는 중앙



**Fig. 3.** Ultrastructurally there is no evidence of cellular junction and basal lamina. The cells have a high N/C ratio, with nuclei varying from round to irregular, deep indentation and nuclear pockets. The chromatin is narrow and shows condensed nuclear rim. A single, medium sized nucleolus is located in peripheral margin of the nucleus. The cytoplasm contains some mitochondria, RER and polyribosome.



**Fig. 4.** The normal hematopoietic cells are depressed by tumor cells in peripheral blood smear(a) and bone marrow aspirated smear(b).



세포에 의하여 미만성으로 소실되었다. 이러한 종양 세포들은 다소 일정한 모양의 원형세포이며 소량의 세포질과 뚜렷한 핵소체를 가지고 있었다. 종양세포의 크기를 형태학적으로 혈관내피세포와 비교해 볼때 중간 크기에서 대 크기이며 두가지 아형이 인정되는데 대균열세포와 대비균열세포이며 종종 유사분열상도 관찰되었다(Fig. 1a). 혈관내에 종양세포가 뭉쳐서 내강을 폐쇄하는 현상인 혈관 전색(vascular plugging)을 보이며 혈관주위로의 종양세포의 침윤도 관찰되었다(Fig. 1b). 다른 부분에서는 종양세포가 섬유주(trabecula)와 洞(sinus)을 따라 침윤되었다. 종양세포 개개가 한줄로 서서 행진하듯이 배열되는 종양세포의 조직 침윤 모양의 특수성 즉 일렬 종대(Indian file) 현상이 피막과 주위 지방조직 및 드물게는 림프절내 洞등에서 흔히 관찰되었다(Fig. 2). 전자현미경적 검사에서 종양세포의 핵은 원형내지는 불규칙적이며 깊게 움푹 패여 있으며 nuclear pocket이 관찰되고 염색질은 핵막을 연하여 농축되어 있었으며 핵소체는 가장자리 변연부에 위치하고 있었다. 세포질내에는 약간의 사립체, 조면세포질내세망, 폴리리보솜이 관찰되었다

beccula)와 洞(sinus)을 따라 침윤되었다. 종양세포 개개가 한줄로 서서 행진하듯이 배열되는 종양세포의 조직 침윤 모양의 특수성 즉 일렬 종대(Indian file) 현상이 피막과 주위 지방조직 및 드물게는 림프절내 洞등에서 흔히 관찰되었다(Fig. 2). 전자현미경적 검사에서 종양세포의 핵은 원형내지는 불규칙적이며 깊게 움푹 패여 있으며 nuclear pocket이 관찰되고 염색질은 핵막을 연하여 농축되어 있었으며 핵소체는 가장자리 변연부에 위치하고 있었다. 세포질내에는 약간의 사립체, 조면세포질내세망, 폴리리보솜이 관찰되었다

Table 1. Monoclonal antibodies used in this study

Antibody	Reactivity	Working dilution	Commercial source	
			IHC	FC
CD1	Thymocytes	1:20	BD	
CD2	All T cells, most NK cells	1:20	BD	D
CD3	T cells	1:50	D	D
CD4	T helper/inducer cells	1:10	D	D
CD5	Thymocytes, mature T cells	1:20	BD	D
CD7	Almost T cells, NK cells, immature myeloid cells	1:20	BD	D
CD8	T cytotoxic/suppressor cells	1:20	BD	D
CD10	Precursor B cells	1:50	D	D
CD13	Myeloid/monocytic cells			D
CD19	pan-B cells	1:50	D	D
CD20(L26)	B-cells	1:50	D	
CD30	Activated B, T cells, RS cells, granulocytes	1:20	D	
CD33	Myeloid/monocytic cells			
CD43(MT1)	T cells, some B cells myeloid, monocytes	1:40	B	D
CD45R(MB1)	B cells	1:25	D	
CD45RO (UCHL1)	T cells, some B cells, monocytes, myeloid cells	1:25	D	
CD45(LCA)	Leukocytes	1:100	D	
CD45RA(MT2)	T cells, B cells, monocytes	1:40	B	
CD16	NK cells			D
CD56	NK cells			D
MB2	B cells	1:40	B	
LN1	Germinal center B cells	1:10	B	
CD74(LN2)	B cells	1:40	B	
LN3(HLA-DR)	Monomorphic HLA-DR antigen	1:20	B	
LN5	Macrophage	1:10	B	
OPD4	T cells(H/I)	1:100	D	
EMA	Epithelial cells	1:50	D	
Vimentin (V9)	Mesenchymal cells	1:10	D	

D: Dako BD: Becton-Dickinson B: BioGenex O: Oncogene-science  
IHC: Immunohistochemistry FC: Flow cytometry

(Fig. 3). Ficoll-hypaque gradient를 이용하여 말초 혈액 단핵 세포층을 분리하여 원심 도말(cytospin)한 다음 Wright-Giemsa 염색한 결과 혈구모세포들이 유핵세포의 거의 대부분을 차지하였다. 이 세포들은 림프절에서 관찰되는 종양세포와 비슷한 양상, 즉 불규칙적으로 주름진 핵, 거친 염색질과 뚜렷한 핵소체를 보였다. 말초 혈액 도말상(Fig. 4a)과 골수 천자 흡인(Fig. 4b)에서도 정상 조혈 세포들이 거의 모두 종양 세포로 대체되었으며 골수 조직 검사 소견상에서도 골수강내에 종양세포가 대부분을 점유하고 있음을 알 수 있었으며 정상 조혈 세포는 거의 존재하지 않았다.

## 2. 세포화학 및 면역조직화학소견

세포화학 염색상 종양세포들은 periodic acid Schiff(PAS) 염색, Sudan black B(SBB) 염색,

myeloperoxidase(MPO) 염색, non-specific esterase 염색에 음성을 보였다. 면역조직화학 검사는 horseradish peroxidase를 이용한 avidin-biotin complex 방법과 alkaline phosphatase를 이용한 APAAP 염색 방법을 이용하였다. 사용한 단클론성 항체는 Table 1에 나타내었다. 세포 항원의 면역학적 표지자를 말초혈액에 대한 flow cytometry(Becton-Dickinson FACScan)와 Ficoll-hypaque gradient를 이용하여 분리한 말초 혈액 단핵 세포층, 림프절 조직의 동결절편상과 포르말린 고정후 파라핀 포매조직에서 검사한 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다. 거의 모든 T 세포에 반응하는 CD7은 flow cytometry상 94.6%, 골수성/단핵구성 세포에 반응하는 CD13은 97.1%, 성숙한 B세포에 반응하는 CD19는 85.22%, natural killer 세포에 반응하는 CD16은

Table 2. Findings of immunologic markers

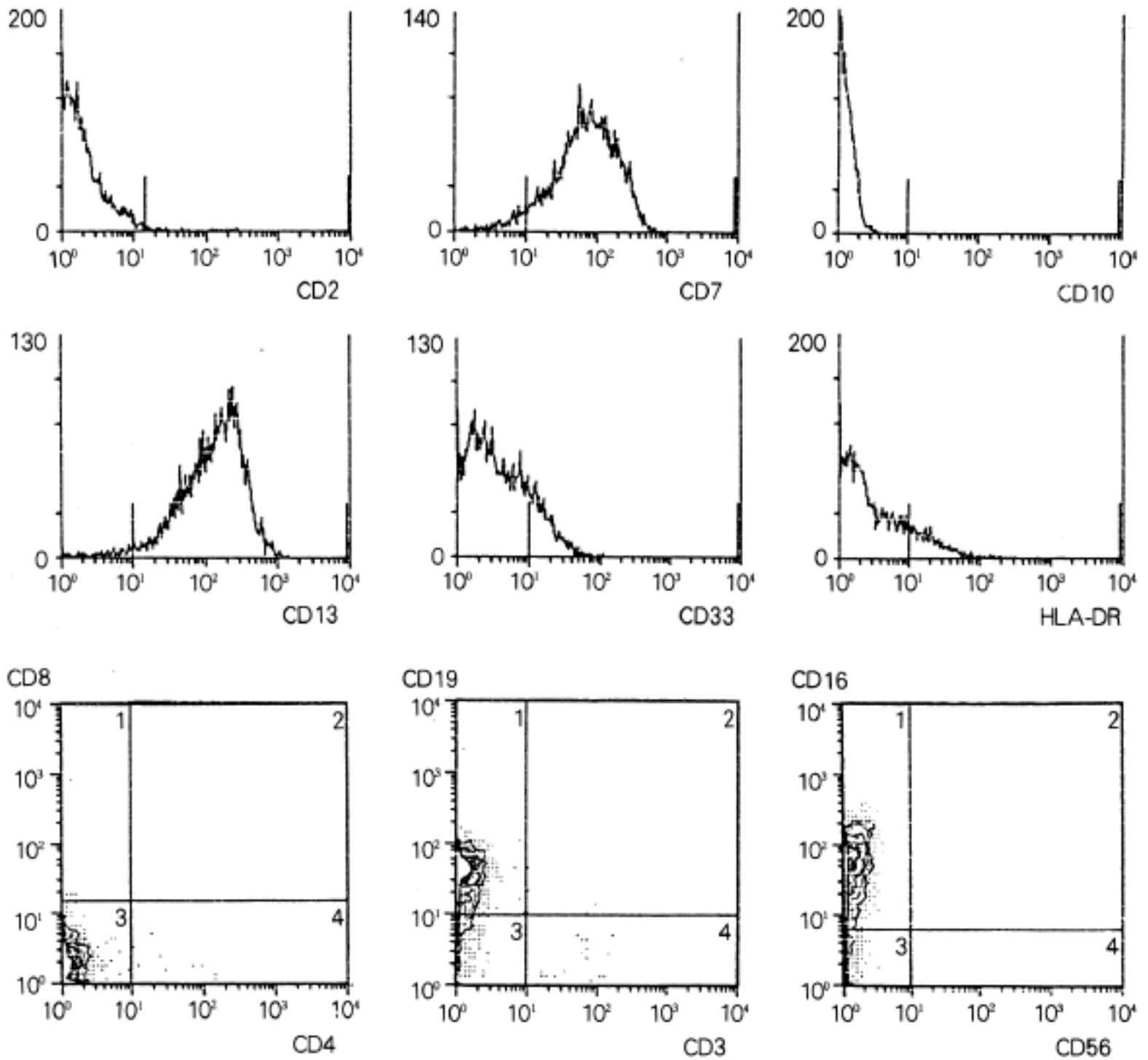
Antibody	Flow cytometry(%)	Frozen	PB	Formalin fixed LN
CD1	nd	-	-	nd
CD2	1.7	-	-	nd
CD3	0.64	+	+	nd
CD4	0.26	-	-	nd
CD5	0.8	-	-	nd
CD7	94.6	+++	+++	nd
CD8	0.72	-	-	nd
CD10	0	-	-	nd
CD13	97.1	nd	nd	nd
CD19	85.22	+++	+++	nd
CD20(L26)	nd	nd	nd	-
CD30	nd	nd	nd	-
CD33	17.1	nd	nd	nd
CD43(MT1)	nd	nd	nd	+++
CD45R(MB1)	nd	nd	nd	+++
CD45RO(UCHL1)	nd	nd	nd	-
CD45(LCA)	nd	++	+	+
CD45RA(MT2)	nd	nd	nd	-
CD16	86.64	nd	nd	nd
CD56	0	nd	nd	nd
MB2	nd	nd	nd	-
LN1	nd	nd	nd	-
LN2	nd	nd	nd	-
LN3(HLA-DR)	16.4	nd	nd	-
OPD4	nd	nd	nd	-
EMA	nd	nd	nd	-
Vimentin	nd	nd	nd	-

PB: Peripheral blood, LN: Lymph node, nd: not done

-: Negative reaction, +: positive reactions less than 50%,

++: Positive reactions from 50% to 85%,

+++ : Positive reactions more than 85%



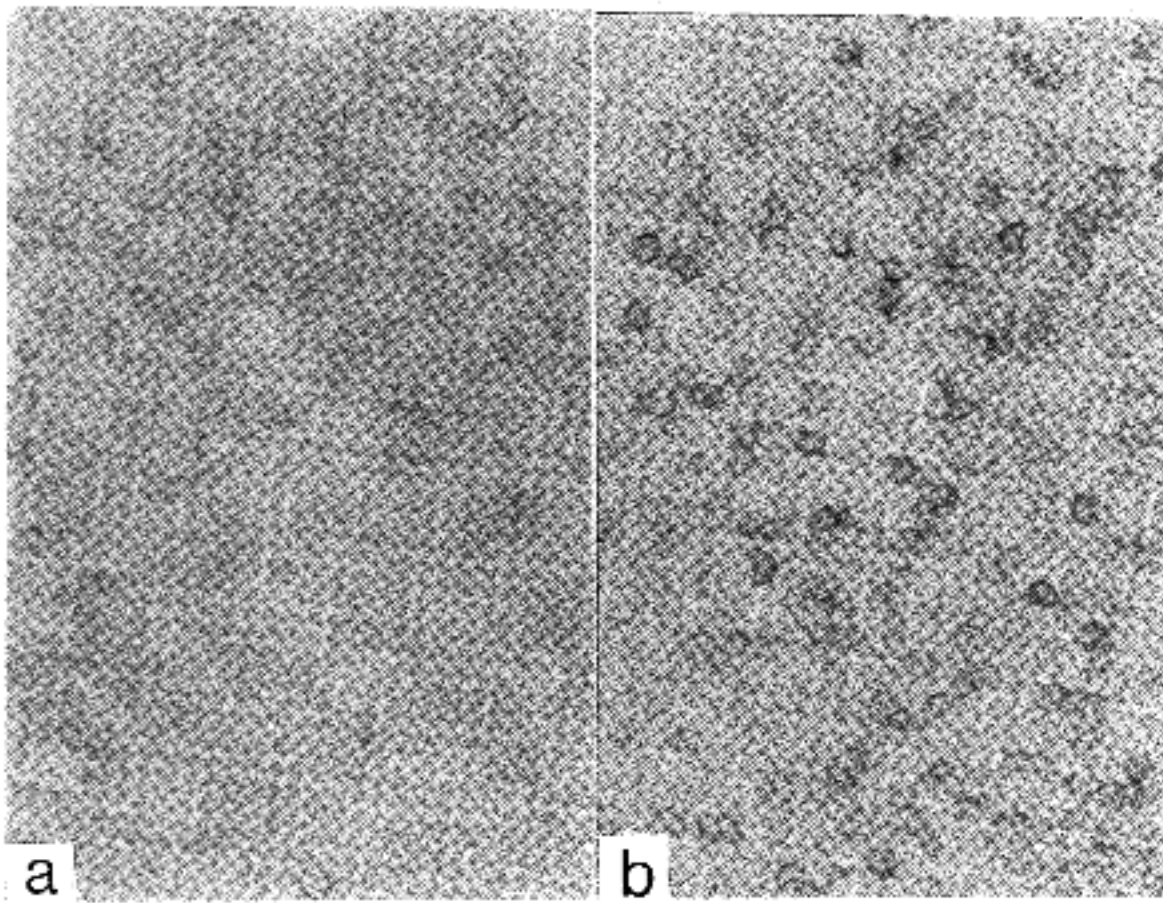
**Fig. 5.** Results of immunophenotyping by flow cytometric examination. Leukemic cells are reactive for CD7, CD13, CD16, CD19 antibodies.

86.64%를 보였다(Fig. 5). 동결절편 조직에서와 말초 혈액 단핵 세포층의 면역학적 검사상 CD3, CD7, CD19, CD45(LCA)에서 양성 반응을 보였으며(Fig. 6) 포르말린 고정후 파라핀 포매조직에서는 CD43(MT1), CD45R(MB1), CD45(LCA)에서 양성 반응을 보였다(Fig. 7). 이 결과로 종양 세포는 CD7, CD13, CD19를 동시에 표현하고 있었고, 그 중 일부에서는 CD3, CD43(MT1), CD45R(MB1)도 표현하고 있음을 알 수 있었다.

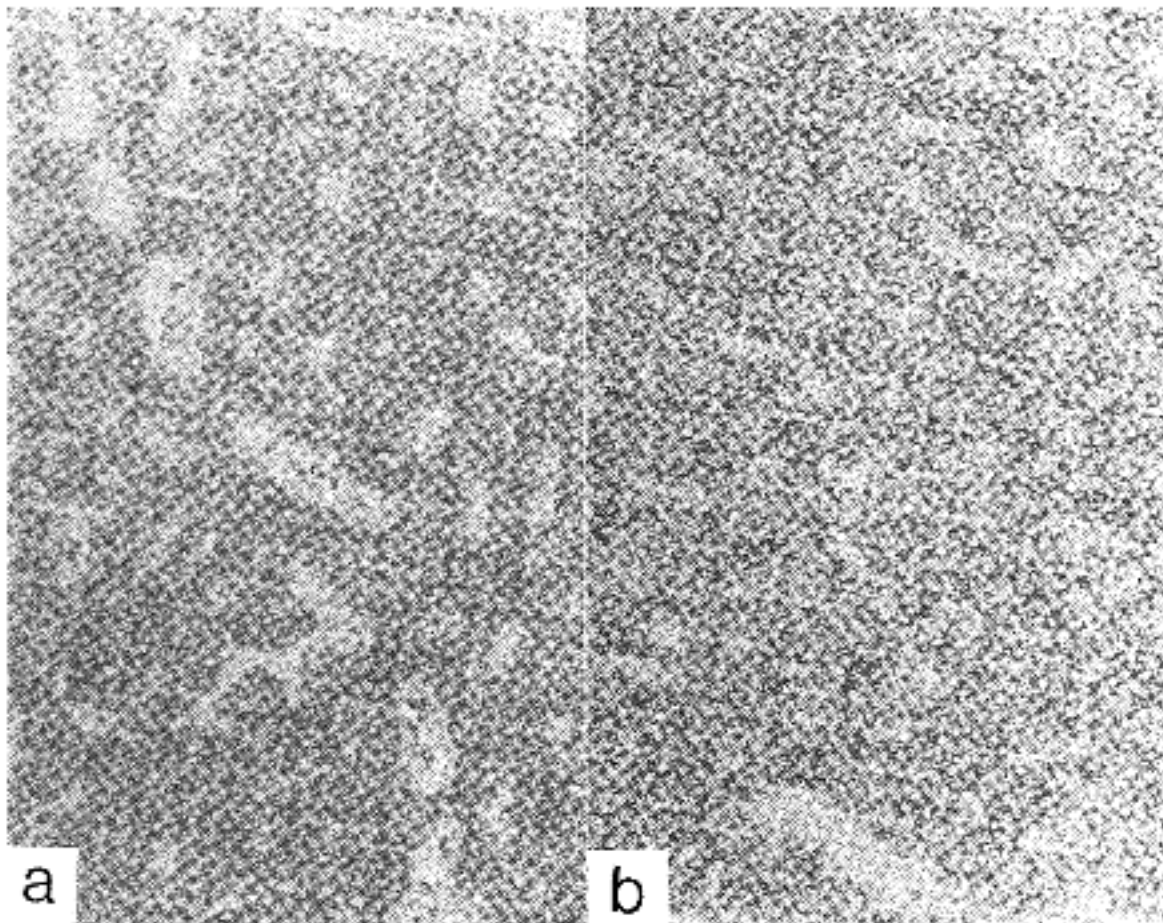
## 고 찰

림프절 종대가 백혈병에 의한 것인지 혹은 림프종에

의한 것인지를 조직 소견 감별은 여러 논문에서 불가능한 것으로 기술되어 있고 특히 만성 림프구성 백혈병과 소림프구성 림프종의 조직 소견은 같다고 기술되었다. 이 두 질환의 감별이 어려운 원인은 림프종이 경과중에 골수를 침범하여 백혈병성 전환을 자주 일으키는 데에 기인한다. Kundrat<sup>9)</sup>와 Turk<sup>10)</sup>는 강한 국소 침윤력, 전신 증상의 결여, 말초에 미성숙 세포가 나타나지 않는 점, 증식력 및 혈류 침범 유무등으로 백혈병으로부터 림프육종(lymphosarcoma)을 구별할 수 있다고 하였다. 백혈병의 발병시에 나타나는 림프절 종대는 백혈병 세포의 침윤 또는 침윤세포의 증식으로 일어나는데 림프절의 종양세포 침윤은 Willis<sup>11)</sup>에 의하면 미만성 침습(permeation pattern)이 아니



**Fig. 6.** Positive reactions for CD7(a) and CD19(b) antibodies in cytoplasmic membranes.



**Fig. 7.** Positive reactions for MT1(a) and MB1(b) in lymph node.

고 전색성 침윤(embolic pattern)을 나타내게 되므로 림프절의 수입 림프관을 통하여 들어온 종양세포 전색되는 피막하 림프동, 림프 여포간동, 수질의 섬유주동(trabecular sinus)을 통하여 분맥으로 전과되어 동맥의 침윤을 나타내며 여기서 증식하여 동맥을 뚫고 피막 및 수의 조직을 침윤하게 된다고 하였다<sup>13)</sup>. 림프

종 역시 강한 증식력과 극소 침범력에 의해 여포 및 동맥의 침윤이 일어나게 된다. 두 군을 감별함에 있어서 일관된 하나의 기준은 없으나 문헌에 기술된 소견을 종합한 김등<sup>13)</sup>은 유사분열상의 극소, 종양세포의 단조로움 및 정심 림프절의 구성 세포인 조석구, 형질세포, 성숙림프구 및 호산구의 극소, 혈관내의 전색과, 혈관



벽의 종양세포의 침윤 및 침윤세포의 윤상 배열, 일렬 종대(indian file) 현상 등은 백혈병의 진단을 뒷받침하는 소견이었고 피막 및 洞의 종양세포 침윤, 림프관 내의 전색과, 골수의 조혈상, 위여포형성등은 감별에 큰 도움이 되지 못한다고 하였다. 본 예에서의 림프절 생검 소견상 침윤 종양 세포가 구조적으로 단조롭고 혈관내 전색과가 보여지며 혈관벽의 종양세포 침윤, 일렬 종대 현상이 피막, 주위 지방조직 및 드물게는 림프절 洞에서 관찰되어 백혈병에 의한 림프절의 침윤으로 보았으나 유사분열이 종종 관찰되는 점은 일치하지 않았다. Gale등<sup>11)</sup>이 제시한 혼합형 백혈병의 진단 기준을 보면, ① 림프구성 표식자중에서 E rosettes 나 면역글로블린(세포질내 혹은 세포표면)중 한가지 이상에서 양성이거나, 혹은 세포화학적 표식자(PAS; AP or terminal deoxynucleotidyl transferase), 유전자 재배열(면역 글로블린, T세포 수용체), 림프구에 대한 항체중 둘 이상에서 양성이고, 동시에 ② 골수성 표식자(MPO, chloracetate esterase or nonspecific esterase)나 Auer rod중 한가지 이상이 양성이거나, 혹은 세포화학적 표지자(SBB)와 골수구에 대한 항체가 모두 양성일 때로 하였다. 본 예는 형태학적으로 급성 림프구성 백혈병에 가까웠으나 PAS, SBB, MPO와 non-specific esterase의 세포화학적 염색에 음성을 보였고 flow cytometry를 이용한 단클론성 항체 검사에서 CD7, CD13, CD19를 강하게 표현하였으며 동결절편과 말초혈액 단핵세포층에서는 CD3, CD19, CD45(LCA)에 양성 반응을 보였고 파라핀 포매 조직에서는 CD43(MT1), CD45R(MB1)에서 양성 반응을 보였다. 즉 골수구의 표지자인 CD13, 림프구의 표지자인 CD3, CD7, CD19, CD43(MT1), CD45R(MB1)을 동시에 표현하였다. 이것만으로는 Gale등<sup>11)</sup>이 제시한 진단 기준과 일치하지는 않지만 일반적으로 어느 한 계열에 특이도를 갖는 것으로 알려진 표식자가 다른 계열의 형태를 가진 세포에서 발현될 때 혼성 백혈병의 진단을 내리고 있다. 급성 골수성 백혈병에서 TdT가 나타나는 경우, 급성 골수성 백혈병에서 T 림프구의 E rosette 항원이 양성으로 나타나는 경우, 급성 림프구성 백혈병에서 골수구계 표지자들 표현하는 경우 등의 많은 보고<sup>4,5,14)</sup>가 있었다. 국내에서도 드물기는 하나 SBB, MPO에 양성인 TdT에 양성을 보인 급성 골수성 백혈병의 예와 골수아세포와 림프아세포가 혼재한 예, FAB L1형에서 FAB M2형으로 전환된 예등이 보고되어 있다<sup>7)</sup>. 급성 혼성 백혈병은 하나의 세포계열 이상의 표현형을 특징으로 하는데 3가지 주 범주로 나눌 수 있다<sup>16)</sup>. 첫째 두가지 다른 모세포(골수성과 림프구성)가 있는 혼성 급성 백혈병, 둘째 골수성과 림프구성 계열(이중 표현형) 양쪽 다 표지자를 나타내는 하나의 모세포집단, 셋째 완화상태에서 변화없이 한 세포계열에서 다른 세포계열로 모세포 변형등이다. 본

예는 둘째 범주에 속하며 부적절한 표현형이 발현된 多能性의 幹細胞에서 혼란된 분화로부터 발생하거나 또는 일부분 인자의 억압소실(genomic depression)로 인하여 발생한다고 설명할 수 있다. 급성 미분화 백혈병은 일반적으로 치료에 대한 반응이 나쁜 것으로 알려져 있고 점차 혼성 백혈병의 보고가 증가하고 있어서 그 임상적인 특징, 치료방법, 예후등을 밝히는 것이 중요하다 하겠다.

### 참 고 문 헌

- 1) Bennett JM, Catorsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, Sultan C. *Proposals for the classification of the acute leukemias. Br J Haematol* 1976; 33: 451-8.
- 2) Matutes E, Pombo de Oliveira M, Foroni L, Morilla R, Catorsky D. *The role of ultrastructural cytochemistry and monoclonal antibodies in acute leukemia. Br J Haematol* 1988; 69: 205-11.
- 3) Second MIC Cooperative study Group. *Morphologic, immunologic and cytogenetic(MIC) working classification of the acute myeloid leukemias. Br J Haematol* 1988; 68: 487-94.
- 4) Pui CH, Dahl GV, Melvin S, Williams DL, Peiter S, Mirro J, Murphy SB, Stass S. *Acute leukemia with mixed lymphoid and myeloid phenotype. Br J Haematol* 1984; 6: 121-30.
- 5) Bradstock KF, Kirk J, Grimsley PG, Kabral A, Hughes WG. *Unusual immunophenotypes in acute leukemia: incidence and clinical correlations. Br J Haematol* 1989; 72: 512-18.
- 6) 최성동, 정대철, 최우건, 김학기, 이경수. *Hybrid leukemia 2례. 소아과* 1991; 34: 130-5.
- 7) 김선희, 민원기, 조한익, 김상인. *혼합형 백혈병 1례. 대한임상병리학회지* 1985; 5: 99-103.
- 8) Gale RP, Bassat IB. *Annotation. Hybrid acute leukemia. Br J Haematol* 1987; 65: 261-4.
- 9) Kundrat H. *Uber Lymphosarcomatosis. Wien Klin Wchnschr*, 1893; 6: 211. *Quated from Wintrobe MM Clinical Haematology. 6th ed. Lea & febiger, Philadelphia, 1967.*
- 10) Turk W. *System der Lymphomatosen, Wien Klin Wchnschr*, 1903; 16: 1073. *Quated from Am J Med* 1965; 38: 786.
- 11) Willis RA. *The spread of tumors in the human body. 3th ed. Butterworths, London Toronto, 1972.*
- 12) Haagensen. *Haematology. McGraw Hill Co, New York, 1977.*
- 13) 김애식, 지제근. *림프절 생검에서의 원발성 림프종과 백혈병의 침윤과의 감별. 대한병리학회지* 1980; 14: 47-53.
- 14) Bradstock KF, Pizzolo G, Papageorgiou ES, Cetto GL, Smith A, Chilosi M, ambrosetti A, Hoffbrand



- AV. Terminal transferase expression in relapsed acute myeloid leukemia. *Br J Haematol* 1981; 49: 621-7.
- 15) Mirro J, Antoun GR, Zipf TF, Melvin S, Stass S. The E rosette-associated antigen of T cells can be identified of blast from patients with acute myeloblastic leukemia. *Blood* 1985; 65: 363-7.
- 16) Neame PB, Soamboonsrup P, Browman G, Barr RD, Saeed N, Chan B, Pai M, Bengner A, Wilson WEC, Walker IR, McBride JA. Simultaneous or sequential expression of lymphoid and myeloid phenotypes in acute leukemia. *Blood* 1985; 65: 142-8.
-