

## 구개편도의 여포중심림프구에 대한 초미세형태측학적 연구

전남대학교 의과대학 병리학교실

이 민 철 · 신 종 한 · 김 윤 미

### An Ultrastructural Morphometric Study of Follicular Center Lymphocytes of the Palatine Tonsil

—Reinvestigation of the Lukes-Collins' Classification of Malignant lymphoma—

Min-Cheol Lee, M.D. and Jong-Han Shin, M.D.

*Department of Pathology, Chonnam University Medical School*

The model of lymphocyte differentiation described for Lukes-Collins classification of non-Hodgkin's lymphoma is related particularly to morphological alterations of nuclei of follicular center lymphocytes by antigenic stimulation.

The authors carried out ultrastructural and morphometric studies to investigate morphological alterations during lymphocyte transformation on the nuclear profiles of follicular center, parafollicular and mantle zone lymphocytes in ten tonsillectomy cases of chronic hypertrophic tonsillitis. The nuclear parameters measured included nuclear area, contour index, frequency invagination and cleft, depth of invagination and nuclear diameters.

Follicular centers contained a mixed population of lymphocytes consisting of untransformed (type 1), partially transformed (type 2) and fully transformed (type 3) lymphocytes. During lymphocyte transformation in both follicular, and parafollicular and mantle zones, the nuclei had a gradual and progressive increase in size. The nuclear contour index of type 2 nuclei of both follicular and parafollicular and mantle zones tended to be higher than those of type 1 and 3, indicating a greater degree of irregularity and variability of nuclear profiles. Invaginated and cleaved lymphocytes were not confined to the transformed lymphocytes. A considerable portion of lymphocytes had invaginations and clefts in parafollicular and mantle zone as well as follicular center. No difference on the depth of invagination was noted in type 1, type 2 and type 3 lymphocytes. The results indicate that some promise of the Lukes-Collins concepts of follicular center cells and the process of lymphocyte transformation in follicular centers may be necessary to revise. **Korean J Pathol 1994; 28: 493~505**

**Key Words:** Lymphocyte transformation, Follicular center, Ultrastructural and morphometric studies

접 수: 1994년 3월 4일, 게재승인: 1994년 5월 25일

주 소: 광주시 동구 학동 8번지, 우편번호 501-190

전남대학교 의과대학 부속병원 해부병리과, 이민철

\* 본 연구의 일부는 전남대학교 병원 임상연구비(1993년도)의 지원을 받아 시행되었습니다.

## 서 론

비호지킨 림프종의 병리조직학적 분류는 종양세포의 성장 방법, 세포형태 및 면역학적 유형 등의 기준에 의하여 이루어지고 있다<sup>1)</sup>. 현재 많이 사용되고 있는 B 세포형 림프종의 분류법의 하나로는 Lukes-Collins 분류<sup>2)</sup>가 있는데 이는 면역학적 표현형과 함께 항원 자극에 의해 반응성 증식을 일으키는 여포중심의 림프구핵의 형태학적 특징을 기준으로 하고 있다. Lukes와 Collins<sup>2)</sup>는 정상 림프조직의 여포 중심림프구 중 일부는 함입된 핵을 가지고 있는데 이와 같이 핵함입을 갖는 림프구를 항원 자극에 의해 변형된 림프구로 생각하였고 핵함입을 갖는 림프구의 증식을 소균열 세포형 및 대균열 세포형 악성 림프종으로 명명하였다. 그러나 비호지킨 림프종은 림프구의 종양성 증식과정이기 때문에 T 세포와 B 세포구역에 정상적으로 존재하는 림프구들과는 형태학적으로 차이가 있을 수 있다. 따라서 Lukes-Collins 분류법<sup>2)</sup>을 B 세포형 림프종 분류에 적용하기 위해서는 항원자극에 따라 여포중심림프구가 소균열세포(small cleaved cell), 대균열세포(large cleaved cell), 소비균열세포(small noncleaved cell), 대비균열세포(large noncleaved cell)로 변형된다는 그들의 가설에 대한 증거가 선행되어야 할 것이다. 또한 비호지킨 림프종의 병리조직학적인 진단은 병리학자들간에 주관적인 차이가 있기 때문에 림프구의 핵의 구조에 대한 객관적인 형태계측학적 연구가 필요하다.

이에 대한 연구로서 정상 림프조직을 구성하는 림프구와 림프종 세포의 핵에 대한 정량적인 연구를 광학현미경하에서 시도한 보고가 있다<sup>3-12)</sup>. 전자현미경적으로는 사람의 정상 림프조직인 림프절, 비장, 구개편도에서 초미세구조학적 형태계측을 시도하여 여포중심부를 구성하는 림프구에 대한 재분류와 림프구 변형과정과 핵함입과의 관계가 드물게 보고되어 있다<sup>13-18)</sup>. 특히 저배율로 관찰한 전자현미경상은 림프구 핵의 구조를 쉽게 관찰할 수 있고, 림프조직의 형태학적 및 기능적 구역내에서 변형과정중에 있는 여포중심림프구의 위치 파악이 용이하며, 광학현미경 관찰에서와 같이 다수세포에 대한 형태계측학적 분석이 가능하다<sup>14)</sup>.

이에 저자들은 빈번한 편도선염으로 인하여 구개편도절제술을 받은 10례를 대상으로 하여 구개편도의 여포중심부(follicular center)와 맨틀부(mantle zone) 및 여포주변부(parafollicular area)에 존재하는 림프구의 변형에 따른 유형별 분포, 핵의 단면적(nuclear profile area)과 핵형태지수(nuclear contour index, NCI)를 이용하여 항원자극시에 변형되는 여포중심림프구가 Lukes-Collins가 제창한 가설과 일치하는지, 핵함입(nuclear invagination)율은 어느 정도이며 핵함입은 맨틀부와 여포주변부에서도 존재하

는지, 특히 균열된 핵(cleaved nucleus)은 여포중심의 변형된 림프구에서만 국한되어 나타나는지를 관찰하기 위하여 본 연구를 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구대상

빈번한 편도선염으로 최근에 구개편도절제술을 받고 만성 비후성 편도선염(chronic hypertrophic tonsillitis)으로 확진된 10례를 대상으로 하였다(Fig. 1). 연령은 5세에서 15세 사이 이었고 남녀비는 3:2였다.

### 2. 표본제작방법

각 증례마다 2×2×1 mm 크기의 조직편을 4개씩 채취하여 4°C Karnovsky 용액<sup>19)</sup>에 약 12시간 동안 전고정한 후 cacodylate 완충액으로 씻어내고 Millonig법<sup>20)</sup>에 따라 4°C Millonig-Osmium tetroxide(1%)에서 1시간 동안 후고정하였다. 이들 조직편은 술식에 따라 탈수하여 Luft법<sup>21)</sup>에 따라 propylene oxide 및 propylene oxide-epon 혼합액을 거쳐 epon액에 포매하였다. 포매된 조직은 35°C, 40°C, 60°C에 각각 24시간씩 중합시켰다. 1 μm 두께의 epon 절편을 얻어서 toluidine blue 염색을 한 후 광학현미경으로 검색하여 초미세형태학적으로 관찰하고자 하는 부위를 결정하였고, 80 nm의 초박절편을 제작한 후 copper grid에 부착시켜 Reynolds법<sup>22)</sup>에 따라 uranyl acetate와 lead citrate의 이중염색을 시행하여 JEOL 100 CXII 전자현미경으로 가속전압 80 kV에서 600배의 배율로 관찰하였다.

각 증례마다 여포중심부(follicular center)와 맨틀부(mantle zone) 및 여포주변부(parafollicular area)에서 일정간격으로 무작위 촬영하여 2400배로 사진을 확대인화하였다. 맨틀부 및 여포주변부는 같은 군으로 간주하였다(Fig. 2)<sup>6)</sup>.

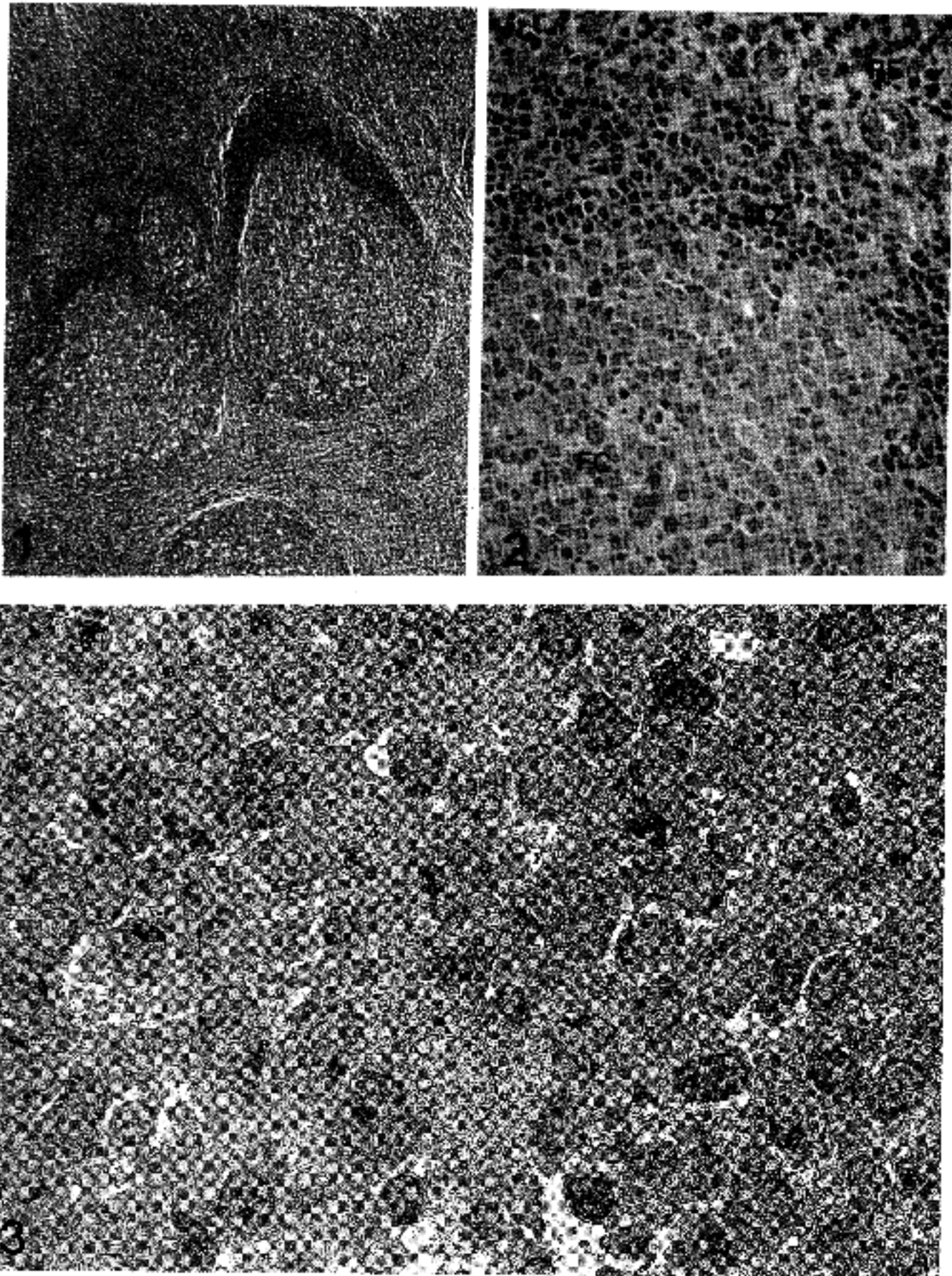
### 3. 림프구핵의 유형별 분류(Nuclear morphotype of lymphocyte)

림프구핵은 염색질분포와 핵의 크기를 기준으로하여 다음과 같이 세가지 유형으로 구분하였다(Fig. 3)<sup>6, 18, 23)</sup>.

**Type 1:** 크기가 작고 현저하게 농축된 이염색질(heterochromatin)을 가지며 다양한 형태의 함입 내지는 균열된 핵을 갖는 림프구.

**Type 2:** 중간크기로, 핵막에 인접한 핵주변부에 이염색질이 분포하고 많은 작은 염색질의 농축이 내부에 관찰되며 type 1 림프구에 비해 더 다양한 형태의 핵을 갖는 림프구.

**Type 3:** 가장 크며, 한 개 이상의 핵소체를 갖고 부분적으로 농축된 염색질이 관찰되며 일반적으로 더 규칙적인 형태의 핵을 갖는 림프구.



**Fig. 1.** Reactive follicular hyperplasia of tonsillar lymphoid tissue.

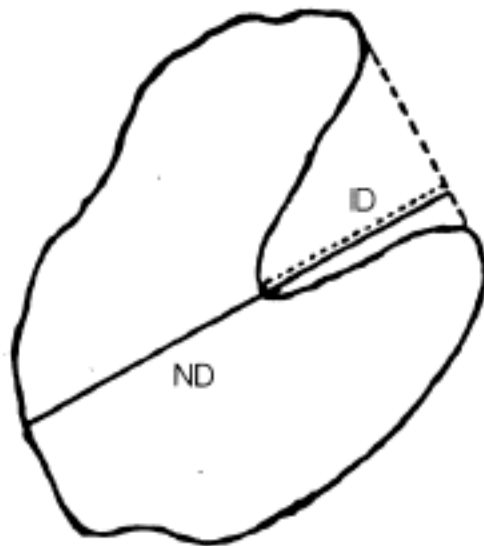
**Fig. 2.** Follicular center(FC), parafollicular area(PF) and mantle zone(MZ). (Epon, Toluidine blue,  $\times 100$ )

**Fig. 3.** Follicular center lymphocytes have three forms of nuclear profiles; small, untransformed(type 1), partially transformed(type 2) and fully transformed(type 3) lymphocytes. The nuclei have invaginations(single arrow) or clefts(double arrow). ( $\times 600$ )

#### 4. 형태계측학적 검색

전자현미경 사진을 화상분석장치(IBAS 2,000,

Kontron, Germany)의 TV camera와 analog-digital converter를 통하여 256개의 회도(grey level)로 표현되는 grey image로 변환시켰다. 본 연구에서



**Fig. A.** Measurement of nuclear diameter (ND) and nuclear invagination depth (ID).

하나의 화소단위가 표현할 수 있는 화상단위는  $0.20 \times 20 \mu\text{m}^2$ (분해능  $0.20 \mu\text{m}$ )이었다. 측정하고자 하는 림프구핵의 주위를 추적하여 핵단면적(nuclear profile area, A), 핵둘레(nuclear perimeter, P), 핵직경(nuclear diameter, ND), 함입의 깊이(nuclear invagination depth, ID)를 측정하였고 또한 핵단면적과 둘레의 측정치로부터 다음의 식에 의해 핵형태지수(nuclear contour index, NCI)를 구하였다.

$$NCI = P / \sqrt{A}$$

NCI는 핵모양의 불규칙성과 관련있는 수치로 크기와는 무관하며 원형일 때는 3.54로, 핵이 불규칙할수록 수치가 증가한다. 또한 핵직경(nuclear diameter, ND)에 대한 핵함입의 깊이(invagination depth, ID)의 비를 산출하였는데 핵함입(indentation 또는 invagination)은 각도가  $45^\circ$  미만이고 깊이가 0.4

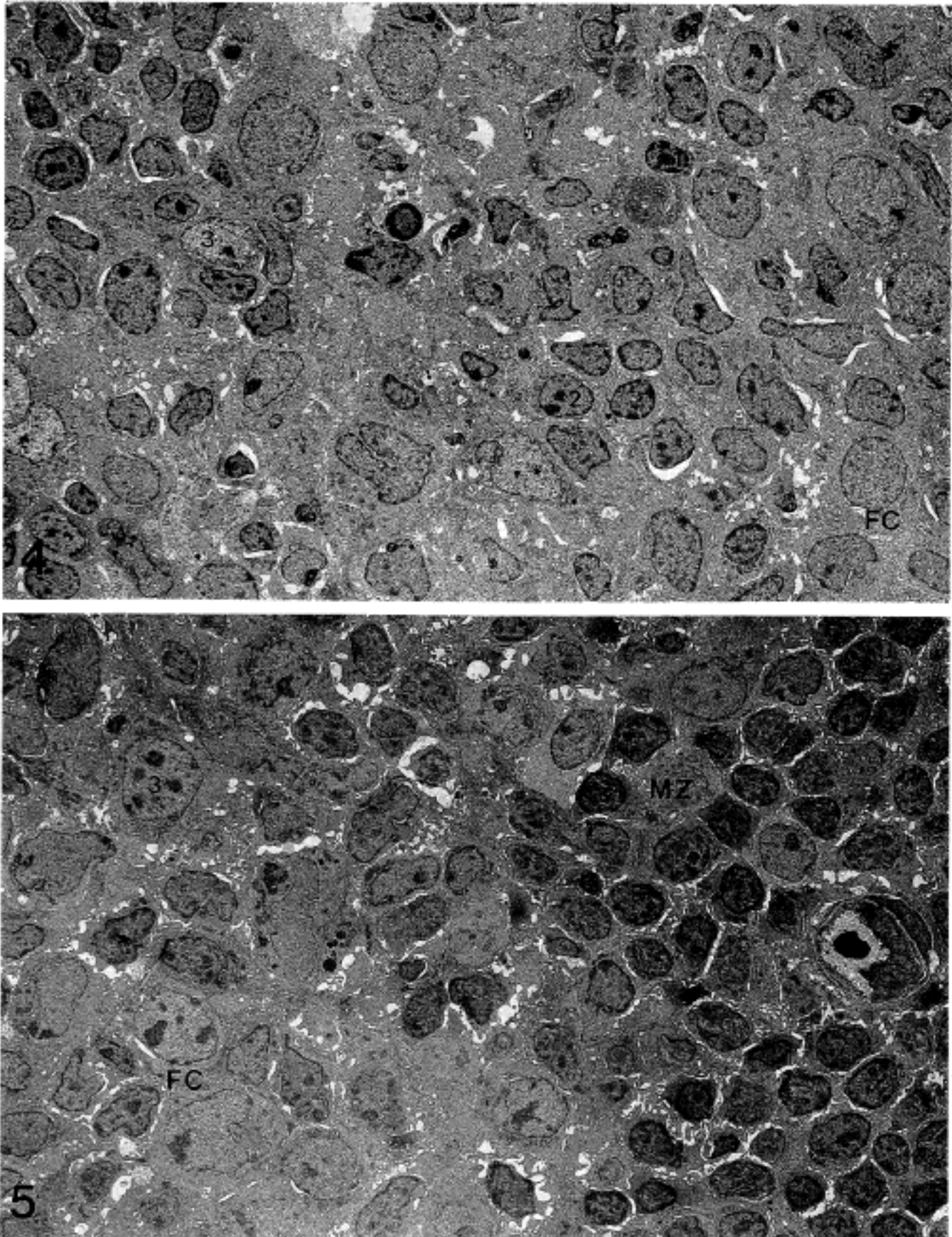
**Table 1.** Mean nuclear profile areas ( $\mu\text{m}^2 \pm \text{SD}$ ) and numbers (proportion, %) of lymphocyte nuclear morphotypes in different areas of tonsil

Nuclear morphotype Cell No.	Case										mean( $\mu\text{m}^2$ ) $\pm$ SD
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Follicular center											
Type 1	36.6 $\pm 9.4$	36.2 $\pm 4.5$	35.8 $\pm 6.7$	36.8 $\pm 11.5$	36.9 $\pm 10.6$	36.9 $\pm 15.5$	36.4 $\pm 15.6$	33.4 $\pm 9.4$	35.0 $\pm 4.8$	35.4 $\pm 7.8$	35.9 $\pm 0.7$
No. (%)	47(47)	32(27)	31(28)	27(27)	27(14)	20(10)	92(39)	43(30)	7(5)	46(20)	372(24)
Type 2	45.4 $\pm 17.8$	49.7 $\pm 13.8$	46.1 $\pm 12.3$	49.7 $\pm 15.3$	46.2 $\pm 12.5$	43.0 $\pm 15.3$	45.9 $\pm 13.9$	43.5 $\pm 12.3$	40.6 $\pm 12.8$	52.2 $\pm 14.4$	46.5 $\pm 5.8$
No. (%)	36(36)	61(52)	51(47)	45(45)	89(46)	82(41)	108(46)	54(38)	98(69)	117(50)	741(47)
Type 3	61.3 $\pm 14.6$	62.6 $\pm 12.0$	71.3 $\pm 14.7$	62.0 $\pm 16.6$	68.7 $\pm 22.8$	67.0 $\pm 18.4$	70.9 $\pm 21.4$	61.0 $\pm 19.1$	65.9 $\pm 19.2$	74.4 $\pm 21.2$	66.5 $\pm 6.7$
No. (%)	17(17)	25(21)	27(25)	28(28)	77(40)	96(49)	35(15)	46(32)	37(26)	71(30)	459(29)
Total No.	100	118	109	100	193	198	235	143	142	234	1572
Mantle zone and parafollicular area											
Type 1	34.5 $\pm 11.9$	37.7 $\pm 9.9$	37.3 $\pm 8.9$	36.4 $\pm 8.0$	34.7 $\pm 6.5$	33.5 $\pm 7.1$	31.1 $\pm 5.7$	31.9 $\pm 5.0$	32.8 $\pm 5.9$	31.6 $\pm 7.4$	34.1 $\pm 4.5$
No. (%)	85(70)	50(70)	59(78)	25(42)	44(64)	73(79)	41(66)	43(46)	45(56)	32(59)	497(64)
Type 2	42.1 $\pm 10.7$	43.4 $\pm 9.6$	49.9 $\pm 15.5$	36.2 $\pm 8.4$	37.8 $\pm 6.6$	43.5 $\pm 7.0$	36.9 $\pm 7.9$	43.7 $\pm 9.8$	42.6 $\pm 15.0$	46.3 $\pm 9.5$	42.2 $\pm 6.5$
No. (%)	30(25)	16(23)	15(20)	24(41)	21(30)	16(17)	12(18)	44(47)	21(26)	15(31)	214(28)
Type 3	65.0 $\pm 18.7$	65.2 $\pm 20.8$	57.2 $\pm 1.4$	57.7 $\pm 11.0$	54.8 $\pm 8.6$	74.7 $\pm 14.5$	63.6 $\pm 22.9$	67.1 $\pm 16.5$	87.3 $\pm 22.3$	72.3 $\pm 10.5$	65.5 $\pm 11.7$
No. (%)	6(5)	5(7)	2(3)	10(17)	4(6)	3(3)	9(15)	6(7)	14(18)	52(10)	64(8)
Total No.	121	71	76	59	69	92	62	93	80	29	775

$\mu\text{m}$  이상이며 핵직경에 대한 핵합입의 깊이의 비가 0.1 이상인 경우로 정의하였고, 합입의 깊이가 핵직경의 1/3 이상인 경우를 핵균열(cleft 또는 cleavage)이라고 정의하였다(Fig. 3)<sup>7, 15, 24</sup>. 2개 이상의 합입이 있는 경우엔 가장 깊은 합입만을 측정하였다. 핵합입의 깊이 측정은 합입의 양시작부위를 연결한 선에 합입의

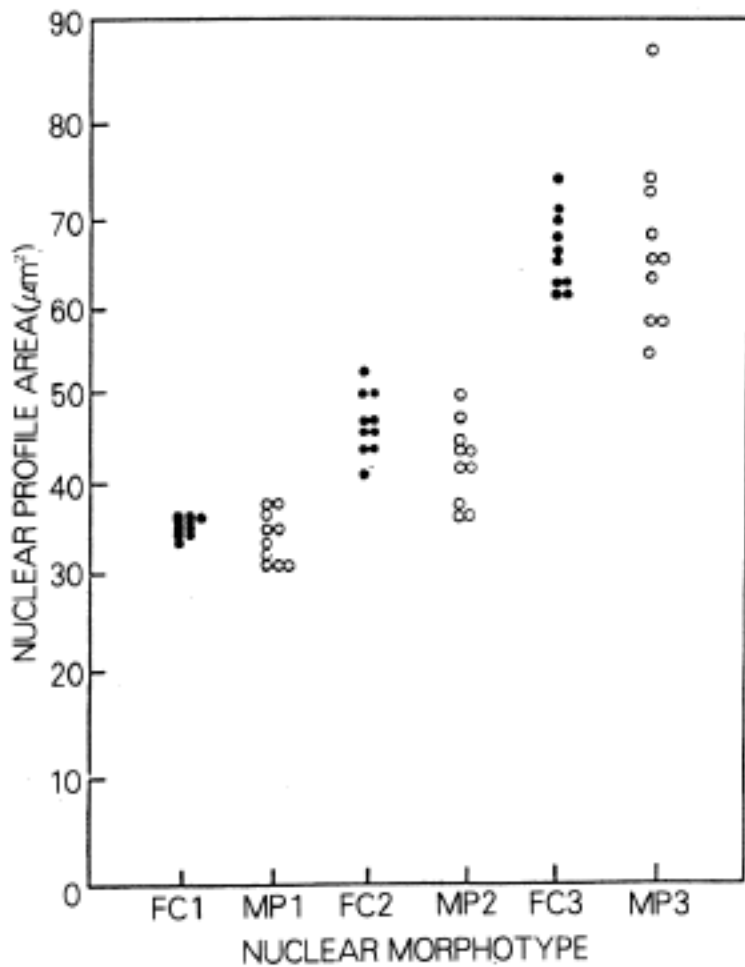
첨부에서 직각으로 그은 선(ID)의 길이로 하였고, 핵직경은 ID를 맞은 편 핵막까지 연장한 선(ND)으로 하였다(Fig. A).

각 예에서 여포중심부에서는 최소한 100개 이상의 세포, 맨틀부 및 여포주변부에서는 최소한 50개 이상의 세포에서 핵단면적과 핵둘레 및 핵형태지수를 측정

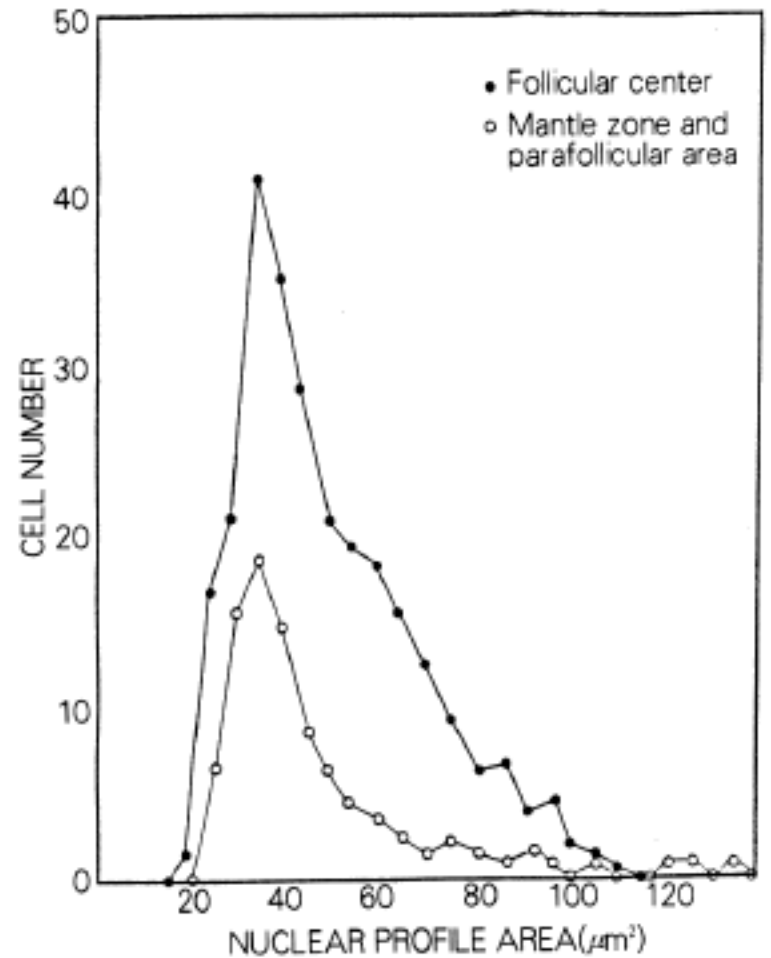


**Fig. 4.** The majority of type 2 lymphocytes are located in the central region of follicular center(FC). ( $\times 600$ )

**Fig. 5.** Type 3 lymphocytes are present at the periphery of follicular center(FC) and type 1 lymphocytes are located mainly in mantle zone(MZ). ( $\times 600$ )



**Fig. 6.** Mean nuclear profile areas. Each point represents the mean value of morphometric measurements of lymphocyte nuclei in selected regions of 10 cases of tonsil. FC1, FC2 and FC3 represent morphotypes 1, 2 and 3 lymphocytic nuclei in follicular center, respectively; MP1, MP2 and MP3 represent morphotypes 1, 2 and 3 lymphocytic nuclei in mantle zone and parafollicular area, respectively.



**Fig. 7.** Frequency distribution of nuclear profile areas of lymphocytes in follicular center, mantle zone and parafollicular area in Case 7.

하였고 핵함입과 균열이 관찰된 모든 림프구에서 핵함입의 깊이와 핵직경을 측정하였다.

## 결 과

### 1. 림프구핵의 유형별 분포

여포중심부의 구성세포는 type 2 림프구가 평균 47 (36~69)%로 가장 높았다. Type 2 림프구는 특히 중앙부위에 밀집되어 있었고 주변부로 갈수록 type 3 림프구가 증가하였다(Fig. 4, 5). 맨틀부 및 여포주변부에서는 type 1 림프구가 평균 64(42~79%)로 가장 많았다(Table 1, Fig. 5).

### 2. 핵단면적과 핵모양지수

Type 1, type 2, type 3 림프구의 핵단면적은 여포중심부에서 각각 평균  $35.9 \mu\text{m}^2$ ,  $46.5 \mu\text{m}^2$ ,  $66.5 \mu\text{m}^2$  이었고 맨틀부와 여포주변부 림프구에서는 각각 평균

$34.1 \mu\text{m}^2$ ,  $42.2 \mu\text{m}^2$ ,  $65.5 \mu\text{m}^2$ 이었다(Table 1, Fig. 6). 핵면적분포를 보면 여포중심부와 맨틀부 및 여포주변부에서 모두 단일 peak를 보였다(Fig. 7).

Type 1 림프구에 대한 type 2, type 3 림프구의 핵단면적 비는 10례에서 여포중심부에서는 각각 평균 1.4, 1.9, 맨틀부 및 여포주변부에서는 각각 평균 1.2, 1.9로 type 1 림프구에서 type 2, type 3 림프구로 갈수록 핵크기가 증가하였다(Table 2).

여포중심부와 맨틀부 및 여포주변부를 구성하는 림프구핵의 모양을 비교하기 위해 산출한 NCI를 보면 여포중심부와 여포주변부 및 맨틀부에서 유사한 값을 보였으며 여포중심이나 맨틀부 및 여포주변부의 type 2 림프구가 type 1 림프구나 type 3 림프구에 비해 NCI가 각각 4.36, 4.27로 더 컸다(Table 3, Fig. 8). NCI 분포를 보면 여포중심부, 맨틀부 및 여포주변부에서 단일 peak를 보였다(Fig. 9).

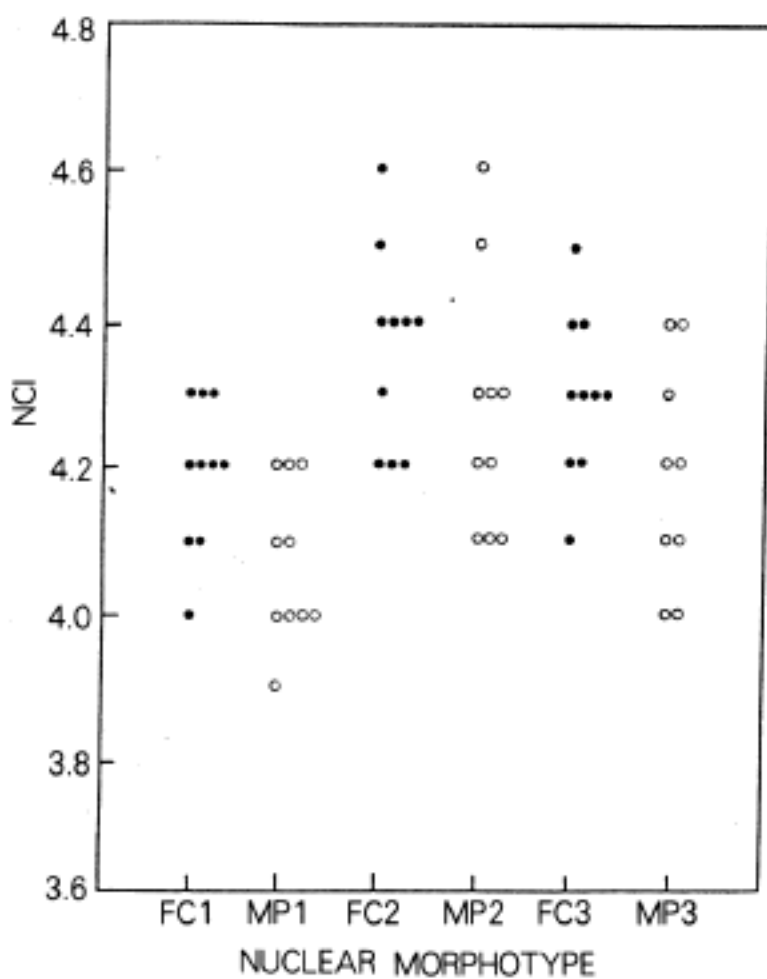
Type 1 림프구에 대한 Type 2, type 3 림프구의 NCI의 비는 여포중심부에서는 각각 1.04, 1.03, 맨틀부 및 여포주변부에서는 각각 1.05, 1.04로 type 2 림프구가 가장 높은 값을 보여 주었다(Table 4).

### 3. 함입과 균열의 비율

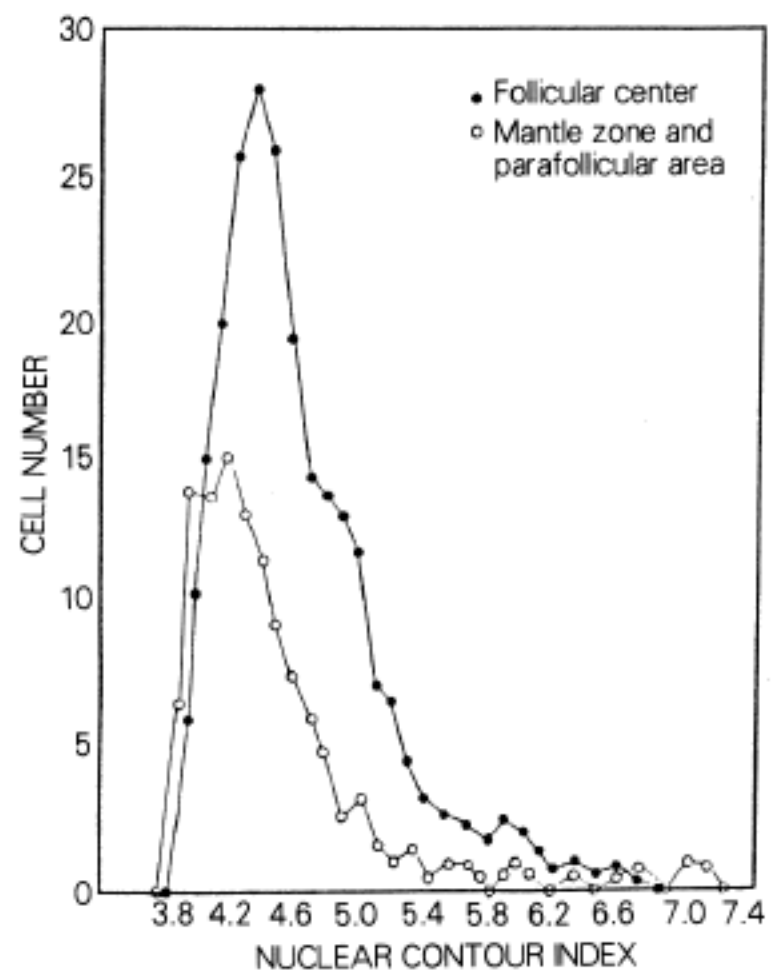
여포중심부의 type 1, type 2, type 3 림프구는 각

**Table 2.** Ratio of mean profile nuclea areas of type 2 and 3 lymphocytes to type 1 lymphocytes in different areas of tonsil

Nuclear morphotype	Case										MEAN
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Follicular center											
Type 1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Type 2	1.3	1.4	1.3	1.4	1.3	1.2	1.3	1.3	1.2	1.5	1.4
Type 3	1.7	1.7	2.0	1.7	1.9	1.8	2.0	1.8	1.9	2.1	1.9
Mantle zone and parafollicular area											
Type 1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Type 2	1.0	1.2	1.3	1.0	1.1	1.3	1.2	1.4	1.4	1.5	1.2
Type 3	1.1	1.7	1.5	1.6	1.6	2.2	2.1	2.1	2.7	2.3	1.9



**Fig. 8.** Mean nuclear contour indices(NCI) of lymphocytes in tonsil. FC1, FC2 and FC3 represent morphotypes 1, 2 and 3 lymphocyte nuclei in follicular center respectively; MP1, MP2 and MP3 represent morphotypes 1, 2, and 3 lymphocyte nuclei in mantle zone and parafollicular area, respectively.



**Fig. 9.** Frequency distribution of nuclear contour indices of lymphocytes in follicular center, mantle zone and parafollicular area in Case 7.

각 평균 43.8%, 66.2%, 67.6%의 함입을 보였고, 맨틀부 및 여포주변부에서는 각각 40.8%, 54.4%, 61.5%

의 함입이 관찰되었다. Type 1, type 2, type 3 림프구로 변형될수록 함입의 비율이 높아졌고 핵함입의 전체평균은 57.4%였다(Table 5). 균열을 갖는 림프구의 비율을 보면 여포중심부에서는 type 1, type 2, type 3 림프구가 각각 2.1%, 7.4%, 7.5%, 맨틀부 및 여포주변부에서는 각각 3.4%, 4.2%, 0%로 핵균열의 전체

**Table 3.** Mean nuclear contour indices( $\pm$ SD) of lymphocytes in different areas of tonsil

Nuclear morphotype	Case										MEAN $\pm$ SD
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Follicular center											
Type 1	4.3 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.2	4.3 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.3	4.3 $\pm$ 0.4	4.2 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.2	4.18 $\pm$ 0.3
Type 2	4.4 $\pm$ 0.4	4.4 $\pm$ 0.2	4.6 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 0.4	4.2 $\pm$ 1.2	4.3 $\pm$ 0.4	4.5 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 0.4	4.2 $\pm$ 0.3	4.36 $\pm$ 0.4
Type 3	4.5 $\pm$ 0.5	4.6 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.4	4.4 $\pm$ 0.5	4.1 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.4	4.3 $\pm$ 0.4	4.3 $\pm$ 0.3	4.3 $\pm$ 0.3	4.30 $\pm$ 0.4
Mantle zone and parafollicular area											
Type 1	4.2 $\pm$ 0.4	4.1 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.4	4.0 $\pm$ 0.1	4.0 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.2	3.9 $\pm$ 0.1	4.0 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.1	4.07 $\pm$ 0.2
Type 2	4.3 $\pm$ 0.4	4.1 $\pm$ 0.2	4.6 $\pm$ 0.7	4.3 $\pm$ 0.9	4.1 $\pm$ 0.2	4.3 $\pm$ 0.4	4.5 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.3	4.1 $\pm$ 0.3	4.27 $\pm$ 0.4
Type 3	4.4 $\pm$ 0.4	4.4 $\pm$ 0.7	4.1 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.1	4.3 $\pm$ 0.4	4.4 $\pm$ 0.3	4.1 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.5	4.0 $\pm$ 0.2	4.21 $\pm$ 0.3

**Table 4.** Ratio of mean nuclear contour indices of type 2 and 3 lymphocytes to type 1 in different areas of tonsil

Nuclear morphotype	Case										MEAN
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Follicular center											
Type 1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Type 2	1.02	1.05	1.10	0.98	1.05	1.05	1.05	1.05	1.07	1.02	1.04
Type 3	1.05	1.02	1.05	0.98	1.05	1.03	1.02	1.00	1.05	1.05	1.03
Mantle zone and parafollicular area											
Type 1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Type 2	1.02	1.00	1.10	1.08	1.03	1.02	1.15	1.05	1.02	1.03	1.05
Type 3	1.05	1.07	0.98	1.05	1.00	1.02	1.13	1.03	1.02	1.00	1.04

평균은 4.9%였다(Table 6).

#### 4. 핵함입의 깊이

핵 함입의 깊이는 여포중심림프구는 평균  $1.11 \mu\text{m}$ , 맨들부 및 여포주변부는 평균  $0.90 \mu\text{m}$ 로 여포중심부에서 더 높은 수치를 보였으며 3예에서는 type 1 림프구의 핵함입 깊이가 type 2 림프구에서보다 높았다. 핵직경은 여포중심부가  $5.56 \mu\text{m}$ , 맨들부 및 여포주변부에서는  $5.51 \mu\text{m}$ 로 비슷하였다.

핵직경에 대한 함입의 깊이의 비를 보면 여포중심부가 평균  $0.20 \pm 0.03$ , 맨들부 및 여포주변부가 평균  $0.18 \pm 0.04$ 을 보였다(Table 7).

#### 고 찰

최근 비호지킨 림프종 분류의 주관성을 피하고 객관적인 분류를 하고자 형태계측학적 연구가 시도되고 있다. Abott<sup>3)</sup>과 Crocker<sup>5)</sup>은 비호지킨 림프종 세포의 핵면적을 측정하여 림프종을 분류한 후 광학현미경에 의한 분류와 비교한 연구에서 형태계측학적 방법에 의한 분류가 높은 객관성과 재현성을 갖는다고 하였다. Marchevsky<sup>16)</sup>은 비호지킨 림프종을 세포크기, 모양, 핵분열수, 성장형태와 같은 변량으로 화상 분석기를 이용하여 분류하였으며 광학현미경상의 진단과



**Table 5.** Proportion of lymphocyte with nuclear profile invaginations to total lymphocytes in follicular center, mantle zone and parafollicular area in different areas of tonsil

Case	Percent nuclear profile invagination(%)					
	Follicular center			Mantle zone and parafollicular area		
	Type 1	Type 2	Type 3	Type 1	Type 2	Type 3
1	74.5	72.2	76.5	38.8	50.0	66.7
2	-	59.3	57.1	36.0	12.5	80.0
3	-	50.0	60.0	44.1	73.3	100.0
4	44.0	57.1	62.5	48.0	33.2	40.0
5	40.7	89.9	55.8	-	-	25.0
6	40.0	65.9	78.1	30.1	56.3	-
7	-	75.9	57.1	65.9	75.0	55.6
8	23.3	72.2	63.0	41.9	61.4	83.3
9	42.9	64.3	97.3	37.8	57.1	42.9
10	-	54.6	71.8	27.8	63.6	-
Mean±SD	43.8±16.9	66.2±11.3	67.6±12.4	40.8±11.3	54.4±18.8	61.5±24.2

**Table 6.** Proportion of lymphocyte with nuclear profile cleavages to total lymphocytes in follicular center, mantle zone and parafollicular area in different areas of tonsil

Case	Percent nuclear profile invagination(%)					
	Follicular center			Mantle zone and parafollicular area		
	Type 1	Type 2	Type 3	Type 1	Type 2	Type 3
1	2.1	11.1	0.0	4.7	10.0	0.0
2	-	9.3	0.0	4.0	0.0	0.0
3	-	0.0	0.0	1.7	6.7	0.0
4	2.2	9.5	12.5	4.0	4.2	0.0
5	0.0	1.1	3.9	-	-	0.0
6	0.0	6.1	14.6	1.4	6.3	-
7	-	13.0	2.9	0.0	0.0	0.0
8	7.0	3.7	2.2	4.7	9.1	0.0
9	0.0	0.6	18.9	0.0	0.0	0.0
10	-	5.5	11.3	5.6	0.0	-
Mean±SD	2.1±3.2	7.4±4.2	7.5±7.1	3.4±2.1	4.2±4.0	0.0±0.0

일치율이 높다고 보고하였다. 그러나 비호지킨 림프종의 형태계측학적 연구를 시행하기전에 정상 림프조직의 각 구역을 구성하는 림프구핵에 대한 기본적인 연구가 필요할 것이다.

정상 림프구에 관한 연구로 Dardick 등<sup>23)</sup>, Setterfield 등<sup>18)</sup>은 사람의 말초혈액 T 세포핵의 자극에 따른 변형에 대한 연구를 시행하여 림프구를 본 연구에서처럼 농축된 염색질 패턴과 핵의 크기에 따라 type 1, type 2 및 type 3 림프구로 분류하여 type 1 림프구를 변형되지 않은(untransformed) 림프구,

type 2 림프구를 부분적으로 변형된(partially transformed) 림프구, type 3 림프구를 완전히 변형된(fully transformed) 림프구라 하였다. 이들에 따르면 항원 자극시 림프구는 type 1 림프구에서 type 2 림프구를 거쳐 type 3 림프구로 변형된다고 하였다. 또한 type 1, type 2, type 3 림프구로 변형됨에 따라 핵의 크기가 점점 커지고 농축된 염색질이 감소함을 관찰하였으며 핵함입의 변화는 관찰되지 않았다고 보고하였다. Dardick 등<sup>23)</sup>은 또한 B 세포의 변형에 따른 핵의 변화를 마우스와 인체의 비장세포에서

**Table 7.** Relationship of mean nuclear invagination depth (ID,  $\mu\text{m}$ ) to mean nuclear diameter (ND,  $\mu\text{m}$ ) of lymphocytes in tonsil

Case	Nuclear morphotype	Follicular center			Mantle zone and parafollicular area		
		ID	ND	ID/ND	ID	ND	ID/ND
1	Type 1	0.77	4.50	0.18	0.79	4.84	0.18
	Type 2	0.98	5.07	0.20	1.34	5.87	0.26
	Type 3	0.86	5.63	0.15	1.08	6.04	0.19
2	Type 1	-	-	-	0.91	4.37	0.22
	Type 2	0.95	5.32	0.18	0.74	5.10	0.15
	Type 3	1.02	6.81	0.15	0.77	7.23	0.24
3	Type 1	-	-	-	0.67	4.60	0.15
	Type 2	1.08	5.99	0.18	1.05	4.70	0.22
	Type 3	1.59	6.75	0.24	0.88	5.90	0.15
4	Type 1	1.24	4.43	0.28	0.80	4.77	0.18
	Type 2	1.10	5.46	0.21	0.90	4.14	0.22
	Type 3	1.24	6.28	0.19	0.82	5.82	0.14
5	Type 1	0.98	5.42	0.18	-	-	-
	Type 2	0.97	5.41	0.23	-	-	-
	Type 3	1.34	6.45	0.21	0.78	6.76	0.12
6	Type 1	0.85	5.18	0.17	0.62	4.84	0.13
	Type 2	1.08	5.58	0.20	1.01	4.94	0.20
	Type 3	1.45	6.14	0.24	-	-	-
7	Type 1	-	-	-	0.66	4.74	0.14
	Type 2	1.40	5.53	0.25	0.95	5.39	0.17
	Type 3	1.45	5.90	0.21	0.70	6.74	0.10
8	Type 1	1.17	4.82	0.23	0.89	4.49	0.20
	Type 2	0.85	4.94	0.18	1.10	5.52	0.22
	Type 3	1.10	6.28	0.17	1.01	6.30	0.16
9	Type 1	1.22	5.64	0.21	0.61	4.58	0.14
	Type 2	1.22	5.63	0.21	0.75	4.74	0.17
	Type 3	1.44	6.50	0.22	1.22	7.15	0.17
10	Type 1	-	-	-	1.10	5.05	0.23
	Type 2	1.14	5.61	0.21	1.05	5.39	0.19
	Type 3	1.35	6.74	0.21	-	-	-

관찰하여 림프구 변형시 핵의 변화를 마우스와 인체의 비장세포에서 관찰하여 림프구 변형시 핵의 크기는 증가하나 핵형태의 변화는 관찰되지 않았다고 하였다.

Dardick 등<sup>6,7,13-15)</sup>은 인체 정상 림프절, 비장과 구 개편도를 이용한 광학현미경 및 전자현미경하의 형태 계측학적 연구에서 림프조직을 여포중심부, 맨틀부와 여포주변부로 구분한 후 각 구역을 구성하는 림프구핵을 위의 분류대로 type 1, type 2, type 3 림프구로 분류하여 각각에 대한 핵면적, 핵형태지수, 핵함입을 측정하였다. 그 결과 여포중심부는 type 2 림프구가 대부분이었으며 type 1, type 2, type 3 림프구로 변형될수록 핵면적은 점진적으로 증가하였고 핵형태지수는 type 2 림프구로 변형될수록 핵면적은 점진적으로 증가하였고 핵형태지수는 type 2 림프구가 가장 높은

수치를 보여 불규칙한 형태였으며 이는 핵함입과는 무관한 것으로 생각하였다. 핵함입과 굴절은 여포중심부 뿐만 아니라 맨틀부에서도 관찰되었고 부분적으로 변형된 type 2 림프구에서만 관찰되는 것이 아니라 변형되지 않은 type 1 림프구, 완전히 변형된 type 3 림프구에서도 관찰되었다. 또한 핵함입의 깊이는 모든 예에서  $0.4\mu\text{m}$  이상이었고 몇 예에서는 type 1 림프구에서 가장 높게 관찰되었다. 이와 같은 결과는 본 연구의 결과와 일치하였으며 림프구 변형동안 핵면적 증가가 관찰되었고 핵함입이 깊어지는 특정기간은 존재하지 않음을 시사하였다. 림프구 변형시 핵면적의 증가는  $G_1$  phase 때 RNA 전사와 단백질합성에 의한 것으로서 세포의 크기는 염색질 사이의 기질(interchromatinic matrix)의 변화와 관계되며 기질의 변

화는 ribonucleoprotein과 관련이 있다고 알려져 있다<sup>13,25)</sup>.

본 연구에서 여포중심부와 맨들부 및 여포주변부의 핵면적의 분포는 단일 peak였으며 Dardick 등<sup>15)</sup>의 연구에서도 같은 결과를 보여 Lukes-Collins 가설에서 보는 소세포와 대세포의 두 종류의 세포 집단(bimodal population)은 존재하지 않음을 시사하였다. Type 1 림프구에 대한 type 2, type 3 림프구의 평균 핵단면적 비가 여포중심부와 맨들부 및 여포주변부에서 상당히 일정한 값을 갖는데 이것은 림프구 변형과정동안 핵크기의 변화는 고도로 조절을 받는 과정임을 시사하는 소견으로 생각되었다.

핵형태지수는 핵의 불규칙성을 나타내는 수치로 Lukes-Collins가 분류한 균열세포와 비균열세포를 객관적으로 구분할 수 있는 지표로 생각되었다. 본 연구에서는 여포중심부와 맨들부 및 여포주변부의 type 1, type 2, type 3 림프구에서 각각 평균 4.18, 4.36, 4.30와 4.07, 4.27, 4.21로 모두 림프구가 원형일 때의 3.54 이상이었고 이는 모든 림프구가 어느 정도는 불규칙하다는 것을 나타냈다. 변형이 안된 상태인 type 1 림프구에서도 변형된 상태인 type 2, type 3 림프구만큼의 핵형태지수를 나타내어 type 1, type 2, type 3 림프구로 변형되는 과정에서 불규칙성의 증가는 관찰되지 않음을 알 수 있었다. 특히 type 2 림프구가 가장 높은 수치를 나타내어 type 2 림프구의 모양이 가장 불규칙함을 알 수 있었으며 이는 핵함입의 깊이의 증가와는 무관한 것으로 생각되었다<sup>22)</sup>. 핵형태지수의 분포는 본 연구에서 여포중심부와 맨들부 및 여포주변부에서 단일 peak를 보여서 림프구의 종류가 단일세포집단(unimodal population)임을 알았다. 본 연구와는 달리 Dardick 등<sup>15)</sup>의 연구에서는 여포중심부와 맨들부 및 여포주변부의 림프구는 핵형태지수가 각각 평균 5.63, 5.71인 집단과 4.24, 4.27인 집단의 두 종류의 두 종류의 세포집단(bimodal population)으로 관찰되어 두 종류의 림프구로 구성되었고 이 결과는 항원 자극에 따른 변형과정의 결과가 아니라 주된 구성세포와는 핵형태지수가 다른 B 세포의 아형의 일종이 존재할 것을 생각하였으며 이런 세포는 약 10% 정도 존재한다고 보고하였다.

핵함입율은 본 연구에서는 전체 평균 57.4%였고 Dardick 등<sup>15)</sup>의 연구에서는 전체 평균 50.2%였다. 핵균열율은 본 연구에서는 전체 평균 4.95, Dardick 등<sup>15)</sup>의 연구에서는 9.8%, 다른 보고에서는 마우스 비장 림프구에서 3%, 사람의 비장세포에서 16%, 사람의 말초혈액 T 세포에서는 14%, Sezary 세포형 세포에서는 6~11%로 세포종류에 따라 많은 차이가 있음을 알 수 있었다<sup>23,25)</sup>. Dardick 등<sup>15)</sup>은 균열세포와 비균열세포는 여러단계의 변형과정에 있는 세포들로서 Lukes-Collins의 가설과는 달리 연속적 변형과정에 있는 세포가 아닌 것으로 보았다. 핵함입과 균열은 부

분적으로 변형된 type 2 림프구에서만 관찰되는 것이 아니며 Dardick 등<sup>15)</sup>의 연구에서와 같이 변형되지 않은 type 1 림프구, 완전히 변형된 type 3 림프구에서도 관찰되었다. 본 연구에서 핵 함입의 깊이는 여포중심부에서 평균 1.11  $\mu\text{m}$ , 맨들부와 여포주변부에서 0.90  $\mu\text{m}$ 로 모두 0.4  $\mu\text{m}$  이상이였다. 증례 2, 4, 8의 경우에는 type 1 림프구의 핵함입의 깊이가 type 2 림프구에서보다 높아서 변형과 정중에 함입의 깊이가 깊어지지 않음을 알 수 있었다.

핵직경에 대한 핵함입의 깊이의 비는 여포중심부와 맨들부 및 여포주변부가 각각 평균 0.20(0.15~0.20), 0.18(0.10~0.26)로 Dardick 등<sup>15)</sup>이 보고한 0.20~0.30과 유사하였다. 이 결과는 여포중심부와 맨들부 및 여포주변부의 모든 림프구가 핵함입을 가지고 있으며 이 핵함입은 항원 자극에 따라 림프구핵 크기의 증가에 비례하여 깊어짐을 나타낸다. 또한 핵직경에 대한 핵함입의 깊이가 작기 때문에 핵직경의 1/3 이상인 핵균열을 갖는 세포의 비율이 높지 않음을 간접적으로 나타낸다.

이와 같은 광학현미경이나 전자현미경하에서 림프조직의 여포중심부에 대한 형태계측학적 연구에서는 type 1, type 2, type 3 림프구로 감에 따라 핵단면적이 점진적으로 증가하였고 변형되지 않은 type 1 림프구에서도 핵함입이 관찰되어 여포중심림프구는 Lukes-Collins 가설에 의한 소균열세포, 대균열세포, 소비균열세포, 대비균열세포로 나누는 것보다는 type 1, type 2, type 3 림프구로 구분하는 것이 실제적인 림프구의 변형을 설명하는데 타당하다고 생각되었다<sup>14,15)</sup>. 그러므로 본 연구의 결과는 여포중심세포의 항원 자극에 의한 변형과정이 Lukes-Collins 가설과는 일치하지 않음을 시사하며 따라서 림프구 변형과정에 대한 Lukes-Collins 가설을 재검토할 필요가 있을 것으로 생각된다.

비호지킨 림프종의 여러 아형과 정상 림프구의 형태 및 면역학적 유형과의 비교 연구는 아직 많지 않다<sup>26)</sup>. 대비균열세포형 림프종(large noncleaved lymphoma)과 면역아세포형 림프종(immunoblastic lymphoma) 핵의 형태계측학적 연구<sup>8)</sup>에서는 이 림프종의 핵면적은 대부분 정상 림프조직의 여포중심부 type 2 림프구핵과 유사하지만 어떤 경우엔 type 1과 type 3 림프구핵과 유사하여 다분히 이질적(heterogenous)임을 알았고 지금까지 사용된 비호지킨 림프종의 분류의 기준이 병리학자들마다 다르다는 것을 객관적으로 알 수 있다고 하였다. 또한 결절성 저분화 림프구성 림프종(nodular poorly differentiated lymphocytic lymphoma)과 미만성 고분화 림프구성 림프종(diffuse well differentiated lymphocytic lymphoma) 핵의 형태계측학적 연구<sup>9,10)</sup>에서는 림프종의 핵단면은 정상 림프조직의 여포중심부와 맨들부 및 여포주변부의 type 1 림프구핵과 유사하여 정상적으로

항원자극을 받아 변형된 림프구인 type 2, type 3 림프구핵의 특징을 갖지 않는다고 보고하였다. 또한 림프종세포핵은 정상 림프구핵보다 더 불규칙한 형태를 갖으며 핵함입율과 핵직경에 대한 핵함입의 깊이도 더 크다고 하였는데 이는 핵함입이 실제적으로 깊어진 것이 아니라 핵 크기가 작아짐에 따라 상대적으로 핵함입의 깊이가 커진 것으로 생각하였다. 비호지킨 림프종의 더 정확한 분류를 위해서는 객관성을 갖는 형태계측학적 방법으로 비호지킨 림프종과 정상 림프조직에 대해 체계적인 연구가 필요하리라 생각된다.

### 결 론

구개편도 10례를 대상으로 여포중심부, 맨틀부 및 여포주변부의 림프구에 대한 초미세형태계측학적 연구를 시도하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 여포중심부는 type 2 림프구가 평균 47%, 맨틀부 및 여포주변부는 type 2 림프구가 평균 64%로 가장 많이 분포하였다.

2) 여포중심림프구의 핵단면적은 type 1, type 2, type 3 림프구로 갈수록 각각 평균  $35.9 \mu\text{m}^2$ ,  $46.5 \mu\text{m}^2$ ,  $66.5 \mu\text{m}^2$ 로 증가하였고 type 1 림프구의 핵단면적에 대한 type 2, type 3 림프구의 핵단면적의 비는 각각 평균 1.4, 1.9로 type 1, type 2, type 3 림프구로 갈수록 일정한 비율로 증가하였다. 맨틀부 및 여포주변부 림프구의 핵단면적은 type 1, type 2, type 3로 갈수록 각각 평균  $34.1 \mu\text{m}^2$ ,  $42.2 \mu\text{m}^2$ ,  $65.5 \mu\text{m}^2$ 로 증가하였고, type 1 림프구에 대한 type 2, type 3 림프구의 핵단면적의 비는 각각 평균 1.2, 1.9로 여포중심부에서와 같이 type 1, type 2, type 3로 갈수록 일정한 비율로 증가하였다.

3) 핵형태지수는 여포중심부와 맨틀부 및 여포주변부에서 거의 차이가 없었고 type 2 림프구의 핵형태지수가 여포중심부에서는 4.36, 맨틀부 및 여포주변부에서는 4.27로 가장 커서 type 2 림프구가 가장 불규칙한 모양을 가졌다.

4) 핵함입은 여포중심부뿐만 아니라 맨틀부 및 여포주변부에서도 관찰되었으며 함입의 비율은 전체평균 57.4%였고 균열의 비율은 전체평균 4.9%였으며, 여포중심부, 맨틀부 및 여포주변부의 변형되지 않은 type 1 림프구에서도 함입과 균열이 각각 42.3%와 2.8%로 관찰되었다.

5) 핵함입의 깊이는 여포중심림프구가 평균  $1.11 \mu\text{m}$ , 맨틀부 및 여포주변부는 평균  $0.90 \mu\text{m}$ 였고, 핵직경에 대한 핵함입의 비는 여포중심부가 평균 0.20, 맨틀부 및 여포주변부가 평균 0.18이었다.

이상의 결과는 여포중심세포의 항원자극에 따른 변형과정이 type 1, type 2, type 3 림프구로 일어나며 Lukes-Collins 가설 즉 소균열세포, 대균열세포로, 소비균열세포, 대비균열세포로 변형된다는 것과는 일

치하지 않음을 시사하였다.

### 참 고 문 헌

- 1) The Non-Hodgkin's lymphoma pathologic classification project. National cancer institute sponsored study of classifications of Non-Hodgkin's lymphomas, summary and description of a working formulation for clinical usage. *Cancer* 1982; 49: 2112-35.
- 2) Lukes RJ, Collins RD. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. *Cancer* 1974; 34: 1488-1504.
- 3) Abbott OR, Blewitt RW, Bird CC. Quantitative analysis of non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol* 1982; 35: 135-8.
- 4) Crocker J, Curran RC. A study of nuclear diameters in lymph node imprints using the Zeiss Microcideomat. *J Clin Pathol* 1979; 32: 670-4.
- 5) Crocker J, Jones EL, Curran RC. Study of nuclear diameters in non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Pathol* 1982; 35: 954-8.
- 6) Dardick I, Dardick AM. Morphometry of normal human lymphoid tissues; nuclear parameters or comparative studies of lymphoma. *Arch Pathol Lab Med* 1984; 108: 190-201.
- 7) Dardick I. Morphometry of normal human lymphoid tissues, nuclear invaginations and clefts. *Arch Pathol Lab Med* 1984; 108: 197-201.
- 8) Dardick I, Caldwell DR, McCaughey WTE, Al-Jabi M. Nuclear morphologic and morphometric analyses of large noncleaved cell and immunoblastic non-Hodgkin's lymphoma. *Hum Pathol* 1984; 15: 965-72.
- 9) Dardick I, Caldwell DR, Bailey DB, Dardick AM, Jeans MTD. Nuclear morphologic and morphometric analyses of nodular poorly differentiated lymphocytic lymphoma: assessment of small cleaved nuclei. *Hum Pathol* 1985; 16: 1187-99.
- 10) Dardick I, Caldwell DR, Silver SS, Tubbs RR. Lymphocyte nuclear morphology in diffuse well-differentiated lymphocytic lymphoma. *Arch Pathol Lab Med* 1987; 111: 130-8.
- 11) Vander Valk P, Jermans J, Brand R, Cornelisse CJ, Spaander PJ, Meijer CJLM. Morphometric characterization of diffuse large-cell histiocytic lymphomas. *Am J Pathol* 1982; 107: 327-32.
- 12) Crocker J, Jones EL, Curran RC. A comparative study of nuclear form factor, area and diameter in non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Pathol* 1983; 36: 298-302.
- 13) Dardick I, Dardick AM, Caldwell DR, Jeans MTD, Bladon T, Setterfield G. Non-Hodgkin's lympho-

- ma classification; Ultrastructural morphometric morphometric studies for the quantification of nuclear compartments in situ. Hum Pathol 1985; 16: 1047-60.*
- 14) Dardick I, Cavell S, Moher D, Seely P, Dardick A, Burns BF. *Ultrastructural morphometric study of follicular center lymphocytes; I. nuclear characteristics and the Lukes-Collin's concept. Ultra Pathol 1989; 13: 373-91.*
- 15) Dardick I, Cavell S, Moher D, Seely P, Dardick A, Burns BF. *Ultrastructural morphometric study of follicular center lymphocytes; II. Analyses of cleaved cell populations do not support the Lukes-Collins' concept. Ultra Pathol 1989; 13: 393-403.*
- 16) Mrachevsky A, Gil J, Silage D. *Computerized interactive morphometry as a potentially usefull tool for the classification of non-Hodgkin's lymphomas. Cancer 1986; 57: 1544-9.*
- 17) Payne CM, Glasser L. *Ultrastratural morphometry in the diagnosis of Sezary syndrome. Arch Pathol Lab Med 1990; 114: 661-71.*
- 18) Setterfield G, Hall R, Bladon T, Little J, Kaplan JG. *Changes in structure and composition of lymphocyte nuclei during mitogenic stimulation. J Ultra Res 1983; 82: 264-82.*
- 19) Karnovsky MJ. *A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. J Cell Biol 1965; 27: 137 A.*
- 20) Millonig GA. *Further obsertion on a phosphate buffer for osmium solutions in fixation; In "Electron microscopy", Proc. 5th Intern. Congr. Electron Microscopy. Academic press, New York 1962; 2: 8.*
- 21) Luft JH. *Improvement in epoxy resin embedding methods. J Biophysiol Biochem Cytol 1961; 9: 409.*
- 22) Reynolds ES. *The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J Cell Biol 1963; 17: 208.*
- 23) Dardick I, Setterfield G, Hall R, Bladon T, Little J, Kaplan G. *Nuclear alterations during lymphocyte transformation, relationship to the heterogenous morphological presentations of non-Hodgkin's lymphomas. Am J Pathol 1981; 103: 10-20.*
- 24) Tosi P, Leoncini L, Spina D, Vecchio MTD. *Morphometric nuclear analysis of lymphoid cells in center cell lymphomas and in reactive germinal centers. Am J Pathol 1984; 117: 12-7.*
- 25) Dardick I, Sinnott NM, Hall R, Bajenko-Carr TA, Setterfield G. *Nuclear morphology and morphometry of B-lymphocyte transformation, implications for follicular center cell lymphomas. Am J Pathol 1983; 111: 35-49.*
- 26) Schurrman HJ, Van Baarlen J, Huppes W, Lam BW, Verdonck LF, van Unnik JAM. *Immunophenotyping of non-Hodgkin's lymphoma; Lack of correlation between immunophenotype and cell morphology. Am J Pathol 1987; 129: 140-51.*