

경도 B세포 림프종 분류시 파라핀 포매 조직에서 시행한 면역조직화학기법의 유용성

인하대학교 의과대학 병리학교실, ¹서울대학교 의과대학 병리학교실
²원자력병원 해부병리과

황태숙 · 이승숙² · 김지은¹ · 한혜승 · 김철우¹

The Value of Immunohistochemistry on Paraffin Embedded Tissue Sections in the Differentiation of Subgroups of Low Grade B-Cell Lymphomas

Tae Sook Hwang, Seung Sook Lee², Ji Eun Kim¹
Hye Seung Han, and Chul Woo Kim¹

Departments of Pathology, Inha University Incheon 402-751, Korea and
¹Seoul National University College of Medicine, and ²Korean Cancer Center Hospital

There had been a continuous evolution of lymphoma classification and recently a Revised European-American Lymphoma Classification was proposed by the International Lymphoma Study Group. This new classification often requires information on immunophenotypic and molecular biologic markers in addition to the usual histologic findings. Recent advances in the production of commercially available monoclonal antibodies reactive on formalin-fixed paraffin-embedded tissues provide us a great help to classify the non-Hodgkin's lymphoma. We have analyzed 31 low grade B-cell lymphomas by the schemes proposed by the International Lymphoma Study Group using antibodies to CD3, CD5, CD20, CD23, CD43, cyclin D1, and bcl-2 protein, and have analyzed the immunophenotypic features. Among 31 low grade B-cell lymphomas, 8 small lymphocytic lymphomas, 5 mantle cell lymphomas, 7 follicle center lymphomas (2 grade I, 3 grade II, and 2 grade III), and 11 marginal zone B-cell lymphomas (all of which were extranodal) were identified. Among 8 small lymphocytic lymphomas, 5 cases were positive for CD5; 6 cases were positive for CD23; 7 cases were positive for CD43; all 8 cases were negative for cyclin D1; and 7 cases were positive for bcl-2. Among 5 mantle cell lymphomas, 4 cases were positive for CD5 and CD43; all five cases were negative for CD23; 4 cases were positive for cyclin D1 and bcl-2. All 7 follicle center lymphomas were negative for CD5, CD43 and cyclin D1 and 2 cases were positive for CD23; and 6 cases were positive for bcl-2. All marginal zone B-cell lymphomas were negative for CD5, CD23 and cyclin D1; 3 cases were positive for CD43 and 9 cases were positive for bcl-2. Diagnostic utility for CD5 antigen detection on paraffin embedded tissue has a limitation due to weak antigen expression in tumor cells of B-cell lymphomas; however, still be useful in differentiating small lymphocytic lymphoma and mantle cell lymphoma from other B-cell lymphomas when applied in conjunction with CD43. CD23, CD43, and cyclin D1 appear to be of great help in differentiating subgroups of low grade B-cell lymphomas. Bcl-2, as known, is found to be useful to rule out reactive follicular hyperplasia. (**Korean J Pathol 1998; 32: 1066~1073**)

Key Words: Malignant lymphoma, B-cell, CD5-23-43, Cyclin D1, Bcl-2

접 수: 1998년 6월 22일, 게재승인: 1998년 11월 3일

주 소: 인천광역시 남구 용현동 253, 우편번호 402-751, E-mail: tshwang@dragon.inha.ac.kr

인하대학교 의과대학 병리학교실, 황태숙

*본 논문은 1996년도 인하대학교 교내연구비의 보조로 이루어졌음.

ISSN : 0379-1149

서 론

악성 림프종을 양성 반응성증식 병변으로부터 감별하거나 악성림프종의 다양한 유형을 분류하는 작업은 병리학이나 임상의학에 있어 매우 중요하며 최근 십여년간 면역조직화학염색에 의한 면역표현학적 특성의 분석은 악성림프종의 진단 및 분류에 커다란 도움이 되었다. 최근 국제림프종연구회에서 제시한 REAL (Revised European American Lymphoma) 분류법에 의한 경도 B세포 림프종은 종래의 임상이용을 위한 실용공식의 경도 림프종과는 달리 혼합형의 여포중심 림프종같은 종래의 중등도 림프종이나 marginal zone B 세포 림프종이나 mantle 세포 림프종같은 새로운 범주 (category)를 포함하며 특히 mantle 세포 림프종의 경우 생물학적 습성이 경도 림프종보다는 오히려 고도 림프종에 더 가깝다는 보고 등이 있어¹⁻³ 경도 B 세포 림프종내의 하위범주 (subcategory)를 정확히 진단해야 할 필요성이 요구된다. 그러나 경도 B 세포 림프종들에 해당되는 아형들은 형태학 및 임상적 양상이 유사하여 정확한 진단이 쉽지 않으며 조직학적 소견 외에 면역표현학적, 세포유전학적 혹은 분자생물학적 표지자들을 식별함으로써만이 가능한 경우가 많다.^{2,3} 이러한 B세포 기원의 악성림프종들은 경쇄제한, CD5나 CD43의 표현, 일부의 범 B 항원 (CD19, CD20, CD22 or CD37)의 소실을 보이는 사실이 알려져 있으며 이 중 mantle 세포 림프종이나 여포중심 림프종에서는 cyclin D1단백이나 bcl-2와 같은 유전단백이 관찰됨이 알려져 있다.³⁻⁶ 이전에는 대부분의 항체들이 신선동결조직의 항원 에피토프만 확인할 수 있어 이미 고정된 조직에는 활용하기가 어려웠고 또한 동결절편을 이용하여 염색할 경우 세포학적 소견을 제대로 관찰할 수 없어 경도 B 세포 림프종을 비롯한 악성림프종의 분류에 어려움이 많았다. 그러나 최근 포르말린에 고정되고 파라핀에 포매된 조직에 반응하는 단클론 항체의 개발과 항원 회수기법 (antigen retrieval technic)의 발달로 이전에는 신선동결조직에서만 가능하였던 항원 에피토프 및 분자생물학적 표지자를 면역조직화학염색으로 확인할 수 있게 되었다.⁷⁻¹³ 그러나 각 기관마다 혹은 같은 기관내에서도 조직의 고정상태가 다르고 항체의 종류 및 항원회수기법이 달라 그 결과에 있어 상당한 차이가 있다.^{4,7,10,12,13}

이에 저자들은 국제 림프종 연구회에서 제시한 조직학적 소견을 이용하여 경도 B세포 림프종을 분류한 후 파라핀에 포매된 조직에서 면역조직화학염색을 시행하여 각 아형의 면역표현학적 특성을 확인하고 경도 B세포 림프종의 진단에 있어서 면역표현학적 표지자 검색의 유용성을 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

포르말린에 고정된 후 파라핀에 포매된 경도 B 세포

림프종 중에서 CD3 음성이고 CD20 양성이며 전형적인 형태학적 소견을 보이는 31예를 국제 림프종 연구회에서 제시한 형태학적 소견에 근거하여 분류하였으며 소림프구성 림프종 (small lymphocytic lymphoma), 림프형질양 림프종 (lymphoplasmacytoid lymphoma), mantle 세포 림프종 (mantle cell lymphoma), 여포중심 림프종 (follicle center lymphoma), marginal zone B 세포 림프종 (marginal zone B-cell lymphoma)을 경도 B 세포 림프종에 포함하였다.

2. 분류 기준

소림프구성 림프종은 작고 둥글거나 혹은 약간 불규칙한 핵을 지닌 소림프구의 미만성 증식을 보이며 부면역모구나 전구림프구가 관찰되며 가끔 증식중심부 (proliferation center)를 형성하고 일부의 예에서는 형질세포양 분화를 보이는 예를 선택하였다.

림프형질양 림프종은 소림프구, 형질세포양 림프구 및 형질세포로 구성되어 있으며 Dutcher체나 Russell체를 지니기도 하나 소림프구성 림프종, mantle 세포 림프종, 여포중심 림프종이나 marginal zone 림프종의 조직학적 소견은 없으며 임상적으로 Waldenstrom's macroglobulinemia가 있는 예를 선택하였다.

Mantle 세포 림프종은 소형 혹은 중형의 약간 불규칙한 핵을 지니며 핵소체는 뚜렷하지 않고 소량의 세포질을 지닌 림프구의 미만성 증식을 보이며 상피양조직구가 자주 보이나 부면역모구나 증식중심부는 관찰되지 않는 예를 선택하였다.

여포중심 림프종은 여포형 패턴을 지니며 균열된 핵과 소량의 세포질을 지닌 중심세포와 둥근핵과 핵소체 그리고 풍부한 호염기성 세포질을 지닌 중심모세포로 구성되어 있는 예를 선택하였으며 종래의 실용공식에 의한 분류기준으로 볼 때 여포형 소균열 세포형을 1등급, 여포형 혼합형을 2등급, 여포형 대형 세포형을 3등급으로 분류하였다.

Marginal zone B 세포 림프종 (MALT-type lymphoma)은 소림프구, 형질세포, 중심세포를 닮은 marginal zone B 세포의 증식을 보이며 림프상피성 병소나 전형적인 단구양 B 세포를 동반하기도 하는 예를 선택하였다.

3. 면역조직화학적 검색

CD3, CD5, CD20, CD23, CD43, cyclin D1, bcl-2 항원 에피토프에 대한 항체를 이용하여 면역조직화학염색을 시행하였다. CD3는 단클론항체 (DAKO, Denmark)를 이용하였고 CD20 (L-26), CD23 (MHM-6), CD43 (DF-T1), bcl-2 (124)는 DAKO사의 단클론항체 (DAKO, Denmark)를 이용하였으며 CD5 (CD5/54/B4)와 cyclin D1 (P2D11F11)은 Novocastra사의 단클론항체 (Novocastra, UK)를 이용하였다. CD20, CD23, CD43, bcl-2는 전자렌지에서 15분간 가열하였고 CD5와 cyclin D1은 고압멸균기에서 15분간 처리하여 항원회복을 하였다. CD23 항원은 CSA kit

(DAKO, USA)를 이용하여 염색을 하였으며 다른 항원은 LSAB kit (DAKO, USA)를 이용하였다. 염색한 후 Mayer hematoxylin으로 대조염색을 시행하였고 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)로 발색하였다. 매 염색시 양성 대조염색과 음성 대조염색을 병행하였으며 CD5, CD23, CD43은 종양세포로 인지되는 세포의 세포막이나 세포질에 염색된 경우를 양성으로 판독하였고, cyclin D1은 종양세포의 10% 이상에서 핵에 강하게 염색 되었을 경우를 양성으로 판독하였으며 bcl-2는 종양세포의 10% 이상에서 세포막이나 세포질이 강하게 염색되었을 경우를 양성으로 판독하였다.

결 과

31예의 경도 B세포 림프종을 분류한 결과 8예의 소림프구성 림프종, 5예의 mantle 세포 림프종, 7예의 여포중심 림프종 및 11예의 extranodal marginal zone B세포 림프종이 해당되었으며 전형적인 림프형질모양 림프종은 없었다.

8예의 소림프구성 림프종 중 5예가 미만성 증식을 하였으며 3예가 가여포를 형성하여 결절성 패턴을 보였고 5예에서 증식 중심부 (proliferation center)가 관찰되었으며 7예에서 부면역모구와 전림프구가 관찰되었다. 6예에서는 종양세포의 핵이 작고 둥글었으며 2예에서는 비전형적이며 균열이 있었으나 증식중심부가 있어 mantle 세포 림프종과 감별하였다. 2예에서 형질세포모양 분화를 보이며 다수의 Russell체가 관찰되었고 핵분열은 드물었다. 면역조직화학염색 결과 8예 중 5예에서 CD5 양성을 보였는데 이 중 1예는 부분적으로 미약하게 반응하였고 CD23은 6예에서 양성반응을 보였으나 1예는 미약하게 반응하였으며 CD43도 7예에서 양성반응을 보였으나 이 중 1예는 미약하게 반응하였다. 형질세포양 분화를 강하게 보였던 2예에서 CD5와 CD23에 음성반응을 보였다. Cyclin D1은 전 예 모두에서 음성이었으며 bcl-2는 7예에서 양성이었다 (Fig. 1 및 Table 1).

5예의 mantle 세포 림프종 모두가 미만성 증식 양상을 보였으며 2예에서 노출된 배중심 (naked germinal center)을 보였다. 종양세포들은 작으나 대부분에서 핵의 균열이 관찰되었다. 1예에서 대형의 변형된 세포가 관찰되었고 3예에서 핵분열이 자주 관찰되었으며 4예에서 상피양 조직구가 흔히 관찰되었다. 면역조직화학염색 결과 5예 중 4예에서 CD5 양성을 보였는데 이 중 2예는 미약하게 반응하였고, 5예 모두가 CD23 음성이었으며 CD43은 5예 중 4예에서 양성이었으며 1예는 판정이 어려웠다. 5예 중 4예에서 cyclin D1에 양성이었으며 5예 중 4예에서 bcl-2에 양성이었다 (Fig. 2 및 Table 1).

여포중심 림프종은 중심세포와 중심모세포로 구성되었으며 소형 혹은 대형 중심세포가 종양의 대부분을 차지하였다. 4예는 전체적으로 여포형 증식을 하고 있었으며 3예는 부분적으로 미만성 증식을 하였다. 전예에

Table 1. Immunophenotypic features of low grade B-cell lymphomas

| | CD5 | CD23 | CD43 | Cyclin D1 | bcl-2 |
|---|-------------------|------|-------------------|-----------|-------|
| Small Lymphocytic Lymphoma | | | | | |
| case 1 | - | + | + | - | + |
| case 2 | + | + | + | - | + |
| case 3 | + | + | + | - | + |
| case 4 | + | + | + | - | ± |
| case 5 ^a | - | - | +(w) ^b | - | + |
| case 6 | +(w) ^b | + | + | - | + |
| case 7 ^a | - | - | - | - | + |
| case 8 | +(w) ^b | + | + | - | + |
| Mantle Cell Lymphoma | | | | | |
| case 1 | +(w) ^b | - | + | ± | - |
| case 2 | + | - | ± | + | + |
| case 3 | +(w) ^b | - | + | + | + |
| case 4 | + | - | + | + | + |
| case 5 | - | - | + | + | + |
| Follicle Center Lymphoma | | | | | |
| case 1 (grade I) | - | - | - | - | + |
| case 2 (grade I) | - | - | - | - | + |
| case 3 (grade II) | - | - | - | - | + |
| case 4 (grade II) | - | + | - | - | - |
| case 5 (grade II) | - | - | - | - | + |
| case 6 (grade III) | - | - | - | - | + |
| case 7 (grade III) | - | + | - | - | + |
| Extranodal Marginal Zone B-cell Lymphoma | | | | | |
| case 1 | - | - | - | - | + |
| case 2 | - | - | + | - | + |
| case 3 | - | - | - | - | ± |
| case 4 | - | - | - | - | + |
| case 5 | - | - | - | - | + |
| case 6 | - | - | - | - | - |
| case 7 | - | - | + | - | + |
| case 8 | - | - | + | - | + |
| case 9 | - | - | - | - | + |
| case 10 | - | - | - | - | + |
| case 11 | - | - | - | - | + |

^aCases showing lymphoplasmacytoid differentiation, ^bw: weak

서 부분적으로 남아있는 여포 (residual follicle)가 관찰되었고 이는 CD23염색으로 뚜렷이 관찰할 수 있었다. 2등급, 3등급의 경우에는 상당수의 유사분열이 관찰되었다. 면역조직화학염색 결과 전 7예 모두 CD5와 CD43에

음성이었고 2예가 CD23 양성이었으며 7예 모두 cyclin D1 음성이었고 7예 중 6예에서 bcl-2가 양성이었다 (Fig. 3 및 Table 1).

Marginal zone B 세포 림프종의 경우 6예에서 주로 중심세포와 유사한 세포로 구성되어 있었으며, 3예에서 소림프구로 구성되어 있었고 2예에서 단구양 B 세포로 구성되어 있었다. 11예 중 7예에서 반응성 여포가 관찰되었고 이 중 6예에서 여포 집락화 (follicular colonization)가 관찰되었으며 여포내의 종양세포가 형질세포로 분화한 경우는 없었다. 림프상피 병소 (lymphoepithelial lesion)은 11예 중 8예에서 관찰할 수 있었다. 면역조직화학염색 결과 전 11예 모두 CD5, CD23, cyclin D1 음성이었고 11예 중 3예에서 CD43에 양성이었으며 11예 중 9예에서 bcl-2에 양성이었다 (Fig. 4 및 Table 1).

각 항원의 경도 B 세포 림프종의 하위 유형간의 발현 정도를 비교하여보면 Table 2와 같다. 모든 B 세포 림프종에서 CD5에 강하게 반응하는 반응성 T 세포가 관찰되었으며 소림프구성 림프종 8예 중 5예와 mantle 세포

림프종 5예 중 4예에서 종양세포가 양성 반응을 보였고 여포중심 림프종과 marginal zone B 세포 림프종에서는 전예 모두 음성 반응을 보였다. 또한 소림프구성 림프종 중 형질세포양 분화를 보이는 2예 모두 CD5에 음성 반응을 보였다. CD23은 소림프구성 림프종 8예 중 6예,

Table 2. Summary of immunophenotypic features of low grade B-cell lymphomas

| | CD5 | CD23 | CD43 | Cyclin D1 | bcl-2 |
|-------------------------------|------|------|------|-----------|-------|
| Small Lymphocytic Lymphoma | 5/8 | 6/8 | 7/8 | 0/6 | 7/8 |
| Mantle Cell Lymphoma | 4/5 | 0/5 | 4/5 | 4/5 | 4/5 |
| Follicle Center Lymphoma | 0/7 | 2/7 | 0/7 | 0/7 | 6/7 |
| Marginal Zone B-cell Lymphoma | 0/11 | 0/11 | 3/11 | 0/11 | 9/11 |

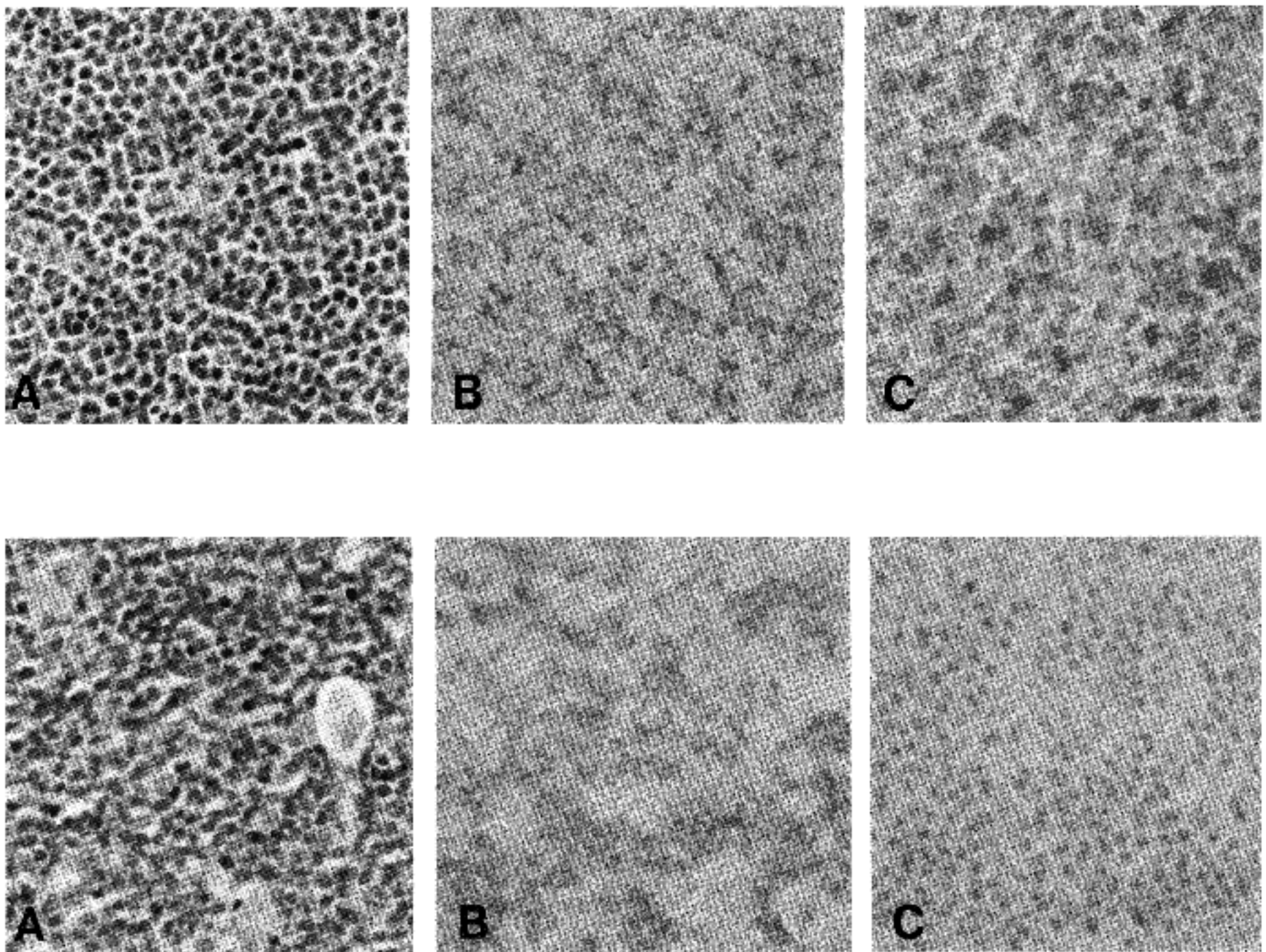


Fig. 2. Microphotograph of mantle cell lymphoma reveals uniform population of small cleaved cells with slightly irregular nuclei and many epithelioid histiocytes (A), immunoreactivity for CD5 (B), and cyclin D1 (C).

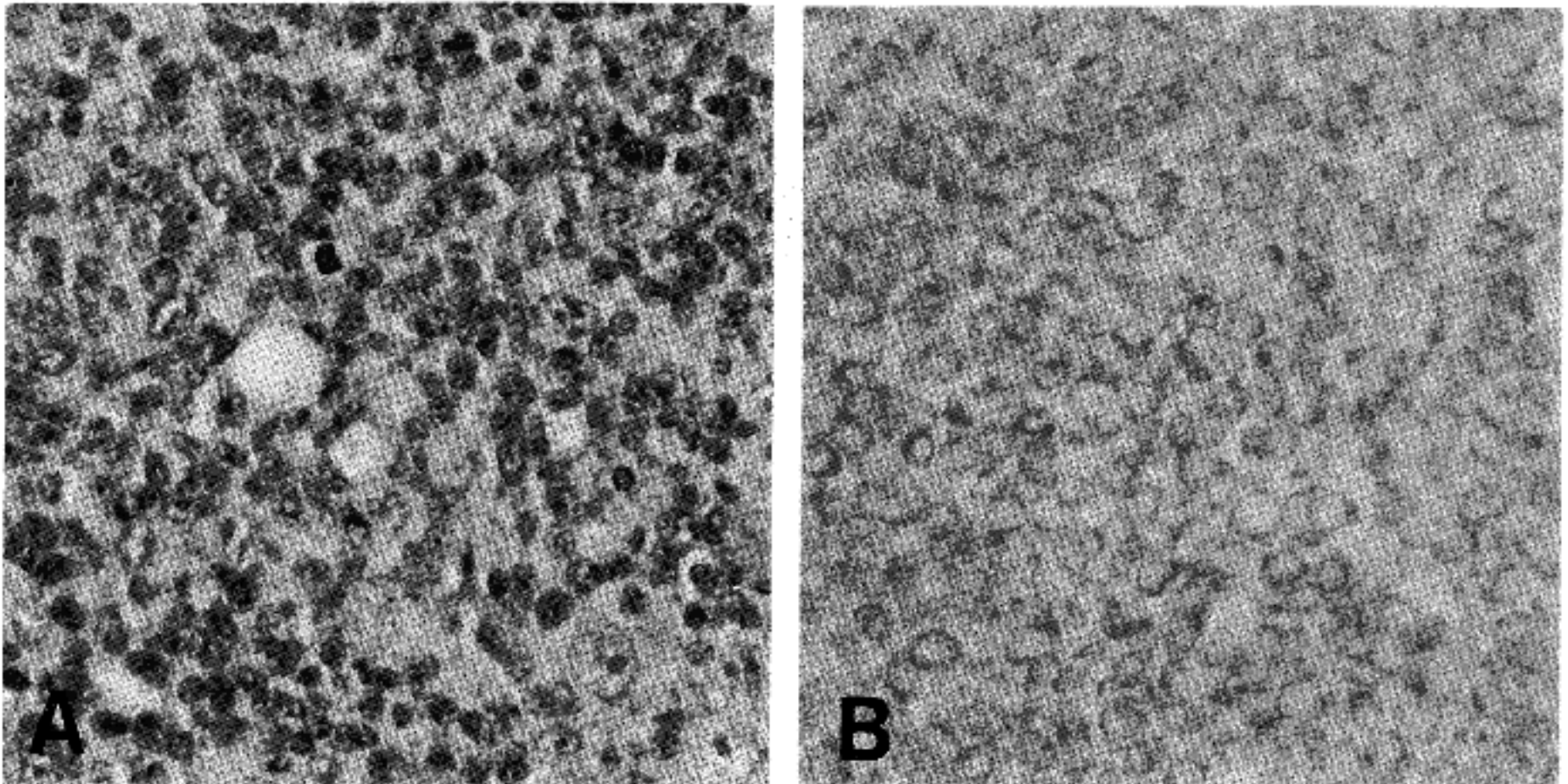


Fig. 3. Microphotograph of follicle center lymphoma reveals proliferation of small cleaved cells with an admixture of large noncleaved cells (A) and immunoreactivity for bcl-2 (B).

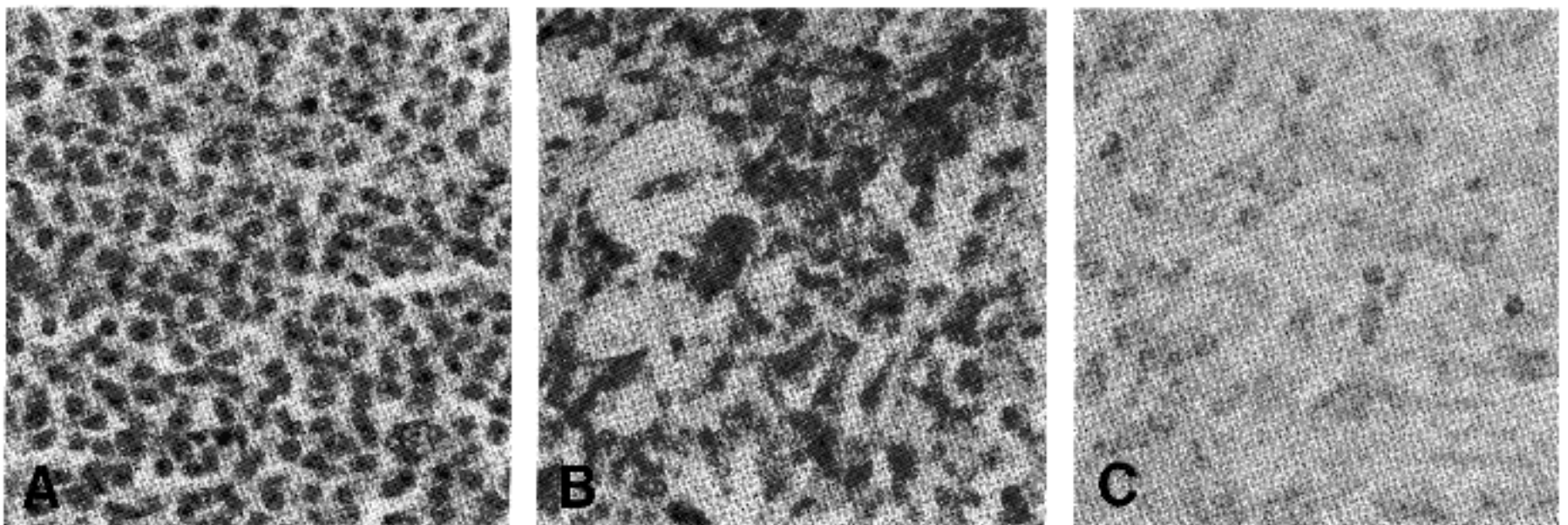


Fig. 4. Microphotograph of extranodal marginal zone lymphoma reveals proliferation of monocytoid B cells (A), immunoreactivity for CD43 (B), and bcl-2 (C).

여포중심 림프종 7예 중 2예에서 양성 반응을 보였으며 mantle 세포 림프종이나 marginal zone B 세포 림프종에서는 음성 반응을 보였다. CD23 양성인 수지상 세포망세포 (follicular dendritic cell)은 mantle 세포 림프종, 여포중심 림프종, marginal zone B세포 림프종에서 남아있는 여포안이나 혹은 불규칙하게 나열된 그물모양으로 염색되었다. 모든 B 세포 림프종에서 CD43에 강하게 반응하는 반응성 T 세포가 관찰되었으며 소림프구성 림프종 8예 중 7예, mantle 세포 림프종 5예 중 4예, marginal zone B 세포 림프종 11예 중 3예에서 종양세포가 CD43에 양성 반응을 보였으며 여포중심 림프종에서는 전예에서 음성 반응을 보였다. Cyclin D1은 mantle 세포

림프종 5예 중 4예에서 양성 반응을 보였고 다른 종양에서는 모두 음성 반응을 보였다. Bcl-2는 소림프구성 림프종 8예 중 7예, mantle 세포 림프종 5예 중 4예, 여포중심 림프종 7예 중 6예, marginal zone B 세포 림프종 11예 중 9예에서 양성 반응을 보였다 (Table 2).

고 찰

면역표현학적 표시자들은 악성림프종이나 다른 림프증식성 질환의 분류에 상당히 유용하나 종전에 사용되던 단클론 항체로는 신선동결조직의 항원 에피토프만 확인할 수 있어 많은 제한이 있었다. 최근에는 파라핀

포매조직에서도 반응할 수 있는 항체개발 및 항원 회수 기법의 발달로 이미 고정된 조직에서도 항원의 존재를 확인할 수 있어 림프종의 진단 및 분류에 커다란 공헌을 하게 되었다.⁷⁻¹³ 특히 일부의 종양에서 관찰되는 비정상적 항원이나 유전자 산물의 표현은 림프종을 다른 질병과 감별하거나 혹은 림프종의 하위 유형을 분류하는데 유용하다.^{5-7,10-13}

이 중 CD5 항원은 대부분의 정상 T 세포에서 표현되며 T 세포 림프종의 상당수에서 표현되나 소림프구성 림프종이나 mantle 세포 림프종 같은 경도 B 세포 림프종의 일부 유형에서도 비정상적으로 표현되며 종양세포가 형질세포양 분화를 보이는 경우에는 소실된다고 한다.¹⁴⁻¹⁶ 또한 여포형 림프종이나 점막기원형 림프종의 경우에는 표현되지 않아 경도 B 세포 림프종의 하위 유형을 분류하는데 도움이 된다고 한다. 파라핀에 포매된 조직절편을 고압멸균기에서 15분간 처리한 후 CD5 단클론항체 (CD5/54/B4)를 이용하여 면역조직화학염색을 시행한 결과 8예의 소림프구성 림프종 중 5예 (63%)에서 CD5에 양성 반응을 보였으나 이 중 1예는 매우 약하게 표현되어 100%의 양성률을 보였던 Kaufmann¹¹이나 81%의 양성률을 보였던 Dorfman¹²의 결과보다는 낮은 양성률을 보였으며 mantle 세포 림프종에서도 5예 중 4예 (80%)에서 양성 반응을 보였으나 이 중 2예는 매우 약하게 표현되어 역시 100%의 양성률을 보였던 Kaufmann¹¹이나 93%의 양성률을 보였던 Dorfman¹²의 결과보다는 낮은 양성률을 보였다. 이는 본 연구에서는 CD5/54/B4 클론을 사용하였던 반면에 Kaufmann¹¹ 등이나 Dorfman¹² 등은 CD5-NCL-4C7 클론을 사용함에 기인한 차이가 크리라 생각되며 향후 4C7 클론을 이용한 검사를 시행할 필요가 있다고 생각한다. 그러나 Dorfman¹² 등의 연구에서도 소림프구성 림프종 13예 중 5예, mantle 세포 림프종 14예 중 6예에서 약하거나 부분적으로만 염색되어 본 연구와 그렇게 큰 차이는 없다고 생각한다. 또한 형질세포모양 분화를 보여 형태학적으로 림프형질모양 림프종과 유사하였던 2예에서는 CD5가 관찰되지 않아 Harris¹⁶ 등의 결과와도 일치하였다.¹⁶ 여포세포 림프종이나 marginal zone B 세포 림프종에서는 종전에 알려진 바와 같이 CD5 항원이 관찰되지 않았다.^{4,17,18} 이상의 결과로 볼 때 적절한 항원회수 기법으로 처리한 후 특이한 클론을 사용하여 염색하면 소림프구성 림프종 및 mantle 세포 림프종을 여포중심 림프종이나 marginal zone B 세포 림프종으로부터 감별하는데 도움을 줄 수 있으리라 생각되나 가음성의 가능성이 상당히 있음을 고려하여야 한다. 또한 파라핀 포매조직에 CD5 염색을 하는 경우 반응성 T 세포는 강하게 염색되나 종양세포에서는 상대적으로 약하게 염색되므로 고배율하에서 자세히 관찰하여야만 하며 형질세포모양 분화를 보이는 경우 CD5에 음성일 경우가 많다는 사실을 염두에 두어야 한다.

CD23 항원은 낮은 친화성의 면역글로블린 E로서 B

세포가 활성화되면 표현되며 소림프구성 림프종과 mantle 세포 림프종의 감별에 유용하다고 알려져 있다.^{4,9,19,20} CD23 항원 검색에 관한 종전의 연구들은 세포 부유액이나 신선동결절편을 이용한 것들이 대부분이었으나 최근 고정에 강한 항원 에피토프를 확인할 수 있는 항체의 개발이나 항원 회수기법의 발달로 파라핀 포매조직에서도 이용할 수 있게 되었다. 전자렌지에서 15분간 가열한 후 CSA (Catalized Signal Amplification) kit를 이용하여 염색을 시행한 결과 8예의 소림프구성 림프종 중 6예 (75%)에서 양성 반응을 보였고 5예의 mantle 세포 림프종 모두에서 음성 반응을 보였으며 7예의 여포중심 림프종 중 2예 (29%)에서 양성 반응을 보였고 marginal zone B 세포 림프종에서는 전예 모두 음성 반응을 보였으며 소림프구성 림프종의 경우를 제외하고는 소림프구성 림프종의 90~95%, mantle 세포 림프종의 0~13%, 여포중심 림프종의 0~25%, marginal zone B 세포 림프종의 0~33%에서 양성 반응을 보였던 종전의 보고와 유사하였다.^{4,9,20-22} CD23항원이 관찰되지 않았던 소림프구성 림프종 2예 모두 형질세포양 분화를 보여 Dorfman¹²의 결과와 일치하였으며 형질세포양 분화를 보였던 2예를 제외하면 소림프구성 림프종 6예 모두 양성반응을 보여 종전의 연구보고와 큰 차이는 없었다. 이상의 결과로 볼 때 CD23항원 표현여부가 소림프구성 림프종과 다른 경도 B 세포 림프종을 감별하는데 도움을 줄 수 있으며 특히 CD5 및 CD43과 같이 이용하면 소림프구성 림프종과 mantle 세포 림프종을 진단하는데 도움이 되리라 생각한다.

CD43 항원은 정상 T 세포, NK 세포, 대부분의 골수성 세포에 존재하는 당화된 단백질로서 활성화된 B 세포에서 표현될 수 있으며 일부의 B 세포 종양에서 비정상적인 발현을 할 수 있어 소림프구성 림프종의 25~95%, mantle 세포 림프종의 62~85%, 여포중심 림프종의 0~9%, marginal zone B 세포 림프종의 0~50%에서 보고된다고 하였다.^{4,7-9,13} 전자렌지에서 15분간 가열한 후 면역조직화학염색을 시행한 결과 소림프구성 림프종 8예 중 7예 (88%), mantle 세포 림프종 5예 중 4예 (80%), marginal zone B 세포 림프종 11예 중 3예 (27%)에서 양성 반응을 보였으며 여포중심 림프종 7예는 모두 음성 반응을 보여 종전의 보고와 유사하였다.^{4,7-9,13} 이상의 결과로 CD43은 CD5와 병행해서 이용할 경우 소림프구성 림프종 및 mantle 세포 림프종의 진단에 도움이 된다고 생각한다.

Cyclin D1 단백질은 11번과 14번 염색체 사이의 전위 [t(11:14)(q13:q32)]에 의한 유전자 재배열의 결과로 생기는 유전자산물로서 G1 시기의 진행을 조절함으로써 세포주기에 관여하며 면역조직화학염색을 하는 경우 정상 림프구에서는 발현되지 않으나 상피세포나 내피세포에서는 발현되며 mantle 세포 림프종의 대부분에서 관찰되며 다른 유형의 림프종에서는 거의 관찰되지 않으나 소림프구성 림프종, 용모세포 백혈병, 용모성 림

프구를 동반한 비장 림프종에서 드물게 관찰되기도 한다고 보고된 바 있다.^{5,21,23,24,26} 조직절편을 고압멸균기에서 15분간 처리한 후 면역조직화학염색을 시행한 결과 mantle 세포 림프종 5예 중 4예에서 cyclin D1 양성 반응을 보여 종전의 연구결과와 일치하였으며 다른 종양에서는 모두 음성 반응을 보여 mantle 세포 림프종의 진단에 유용함을 확인할 수 있었다.^{5,21,23-27} Cyclin D1에 대한 염색도는 종양마다 차이가 있었고 같은 종양내에서도 강도의 차이가 있었는데 이는 종양세포들이 세포 주기의 각각 다른 시기에 있기 때문으로 설명할 수 있으며 종양의 고정상태에 의한 차이도 있으리라 생각된다.

Bcl-2 단백질은 미토콘드리아의 내막에 존재하는 단백질로서 아토포토시스를 저지시킨다고 알려져 있는데 여포중심 림프종에서는 14번과 18번 염색체 사이의 전위에 의해 18번 염색체 단완에 위치하였던 bcl-2 유전자가 14번 염색체 단완 (14q32)에 위치한 면역글로불린 중쇄의 접착부위 (joining region)에 결합함으로써 유전자 재배열이 일어나 활성화되고 과표현된다.²⁸⁻³¹ Bcl-2 단백질은 T세포 혹은 mantle 지대 림프구에서도 관찰되며 이 단백질에 대한 단클론 항체는 여포중심 림프종의 대부분에서 반응하고 과증식된 여포중심에서는 반응하지 않아 반응성 여포와 여포형 림프종의 여포를 감별하는데 도움이 된다고 알려져 있다.^{29,32} 그러나 여포중심 림프종에서도 전 예 모두가 반응하지는 않고 여포형 소군열세포 림프종에서는 100%에서 반응하나 여포형 혼합소군열 및 대형세포형이나 여포형 대형세포형에서는 85%, 76% 정도에서 반응한다고 알려져 있다.³³ 여포중심 림프종의 7예 중 6예에서 관찰되며 1예의 여포형 혼합소군열 및 대형세포형에서는 관찰되지 않았고 대부분의 다른 B 세포 림프종에서 관찰되어 림프종의 하위 유형의 분류에는 도움이 되지 않으나 본 연구에서도 반응성 여포형 증식을 여포중심 림프종과 감별하는 데는 도움이 되었다 (테이타는 수록하지 않았음).

결 론

포르말린에 고정되고 파라핀에 포매된 31예의 경도 B 세포 림프종을 대상으로 국제 림프종 연구회에서 제시한 REAL 분류법으로 분류한 후 면역조직화학염색으로 각 아형의 면역표현학적 특성을 분석하고 면역표현학적 표지자의 진단적 유용성을 살펴본 결과 다음의 결과를 얻었다.

1) 31예의 경도 B 세포 림프종을 REAL 분류법에 의하여 분류한 결과 소림프구성 림프종 8예, mantle 세포 림프종 5예, 여포중심 림프종 7예, extranodal marginal zone B세포 림프종 11예가 해당되었으며 전형적인 림프형질모양 림프종은 없었다.

2) CD5는 소림프구성 림프종 8예 중 5예와 mantle 세포 림프종 5예 중 4예에서 양성 반응을 보였으며 여포중심 림프종과 marginal zone B세포 림프종에서는 전예

모두 음성 반응을 보였다. 또한 CD23은 소림프구성 림프종 8예 중 6예, 여포중심 림프종 7예 중 2예에서 양성 반응을 보였으며 mantle 세포 림프종과 marginal zone B 세포 림프종에서는 전예 모두 음성 반응을 보였다. CD43은 소림프구성 림프종 8예 중 7예, mantle 세포 림프종 5예 중 4예, marginal zone B세포 11예 중 3예에서 양성 반응을 보였으며 여포중심 림프종에서는 전예 모두 음성 반응을 보였다. Cyclin D1은 mantle 세포 림프종 5예 중 4예에서 양성 반응을 보였고 다른 종양에서는 모두 음성 반응을 보였다. Bcl-2는 소림프구성 림프종 8예 중 7예, mantle 세포 림프종 5예 중 4예, 여포중심 림프종 7예 중 6예, marginal zone B 세포 림프종 11예 중 9예에서 양성 반응을 보였다.

3) 파라핀 포매조직에서 CD5 염색은 반응성 T 세포에서는 강하게 염색되나 B 세포 림프종의 종양세포에서는 염색도가 약하여 가음성이 관찰되는 경우가 종종 있으나 적절한 항원 회수기법으로 처리하고 CD43과 병행하여 사용하면 소림프구성 림프종이나 mantle세포 림프종을 다른 B 세포 림프종과 감별하는데 도움이 되며 CD23은 소림프구성 림프종과 mantle 세포 림프종의 감별에 상당히 도움이 되고 CD43 역시 CD5와 유사하게 소림프구성 림프종과 mantle 세포 림프종의 진단에 도움이 되며 cyclin D1은 mantle 세포 림프종의 진단에 도움이 된다고 생각한다. Bcl-2 단백질은 반응성 여포중심을 감별하는데는 도움이 되었으나 림프종의 하위 유형을 감별하는데는 도움이 되지 않았다.

참 고 문 헌

- Lardelli P, Bookman M, Sundeen J, Longo D, Jaffe E. Lymphocytic lymphoma of intermediate differentiation. Morphologic and immunophenotypic spectrum and clinical correlation. *Am J Surg Pathol* 1990; 14: 752-63.
- Chan JKC, Banks PM, Cleary ML, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms proposed by the International Lymphoma Study Group: a summary version. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 543-60.
- Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84: 1361-92.
- Zukerberg LR, Medeiros JL, Ferry JF, Harris NL. Diffuse low-grade B-Cell lymphomas: four clinically distinct subtypes defined by a combination of morphologic and immunophenotypic features. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 373-85.
- Zukerberg LR, Yang WI, Arnold A, Harris NL. Cyclin D1 expression in non-Hodgkin's lymphomas: detection by immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol* 1995; 103: 756-60.
- Perkins SL, Kjeldsberg CR. Immunophenotyping of lym-

- phomas and leukemias in paraffin-embedded tissues. *Am J Clin Pathol* 1993; 99: 362-73.
7. Contos MJ, Kornstein MJ, Innes DJ, Ben-Ezra J. The utility of CD20 and CD43 in subclassification of low-grade B-cell lymphoma on paraffin section. *Mod Pathol* 1992; 5: 631-3.
 8. Gelb AB, Rouse RV, Dorfman RF, Warnke RA. Detection of immunophenotypic abnormalities in paraffin-embedded B-lineage non-Hodgkin's lymphomas. *Am J Pathol* 1994; 102: 825-34.
 9. Kumar S, Green GA, Teruya-Feldstein J, Raffeld M, Jaffe ES. Use of CD23 (BU38) on paraffin sections in the diagnosis of small lymphocytic lymphoma and mantle cell lymphoma. *Mod Pathol* 1996; 9: 925-9.
 10. Singh N, Wright DH. The value of immunohistochemistry on paraffin wax embedded tissue sections in the differentiation of small lymphocytic and mantle cell lymphomas. *J Clin Pathol* 1997; 5: 16-21.
 11. Karfmann O, Flath B, Spath-Schwalbe E, Possinger K, Dietel M. Immunohistochemical detection of CD5 with monoclonal antibody 4C7 on paraffin sections. *Am J Clin Pathol* 1997; 108: 669-73.
 12. Dorfman DM, Shahsafaei A. Usefulness of a new CD5 antibody for the diagnosis of T-cell and B-cell lymphoproliferative disorders in paraffin sections. *Mod Pathol* 1997; 10: 859-63.
 13. Treasure J, Lane A, Jones DB, Wright DH. CD43 expression in B cell lymphoma. *J Clin Pathol* 1992; 45: 1018-22.
 14. Sundeen JT, Longo DL, Jaffe ES. CD5 expression in B-cell small lymphocytic malignancies: correlations with clinical presentation and sites of disease. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 130-7.
 15. Molot RJ, Meeker TC, Wittwer CT, et al. Antigen expression and polymerase chain reaction amplification of mantle cell lymphomas. *Blood* 1994; 83: 1626-31.
 16. Harris NL, Bhan AK. B-cell neoplasms of the lymphocytic lymphoplasmacytoid and plasma cell types: immunologic analysis and clinical correlation. *Hum Pathol* 1985; 16: 829-37.
 17. Knowles DM, Halper JP, Asso W, Wang CY. Reactivity of monoclonal antibodies Leu-1 and OKT1 with malignant human lymphoid cells. *Cancer* 1983; 52: 1369-77.
 18. Harris NL, Bhan AK. Distribution of T cell subsets in follicular and diffuse lymphomas of B cell type. *Am J Pathol* 1983; 113: 172-80.
 19. Stetler-Stevenson M, Medeiros LJ, Jaffe ES. Immunophenotypic methods and findings in the diagnosis of lymphoproliferative diseases. In: Jaffe ES ed, *Surgical pathology of the lymph nodes and related organs*. 2nd ed. Philadelphia, WB Saunders. 1994; 22-57.
 20. Kilo MN, Dorfman DM. The utility of flow cytometric immunophenotypic analysis in the distinction of small lymphocytic lymphoma/chronic lymphocytic leukemia from mantle cell lymphoma. *Am J Clin Pathol* 1996; 105: 451-7.
 21. Loyson SAJ, Deboer CJ, Schuurung E, Kluin PM, Vankrieken-JHJM. Mantle cell lymphoma: a morphological immunohistochemical and molecular genetic study. *Pathol Res Pract* 1996; 192: 781-9.
 22. Medeiros LJ, Jaffe ES. Low-grade B-cell lymphomas not specified in the working formulation. In: Jaffe ES ed, *Surgical pathology of the lymph nodes and related organs*. 2nd ed. Philadelphia, WB Saunders. 1994; 221-51.
 23. Ott MM, Helbing A, Ott G, et al. Bcl-1 rearrangement and cyclin D1 protein expression in mantle cell lymphoma. *J Pathol* 1996; 179: 238-42.
 24. Yang WI, Zukerberg LR, Motokura T, Arnold A, Harris NL. Cyclin D1 (Bcl-1, PRAD1) protein expression in low-grade B-cell lymphomas and reactive hyperplasia. *Am J Pathol* 1994; 145: 86-96.
 25. Yatabe Y, Nakamura S, Seto M, et al. Clinicopathologic study of PRAD1/Cyclin D1 overexpressing lymphoma with special reference to mantle cell lymphoma: a distinct molecular pathologic entity. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1110-22.
 26. Bosch F, Jares P, Campo E, et al. PRAD-1/cyclin D1 gene overexpression in chronic lymphoproliferative disorders: a highly specific marker of mantle cell lymphoma. *Blood* 1994; 84: 2726-32.
 27. Jadayel D, Matutes E, Dyer MJS, et al. Splenic lymphoma with villous lymphocytes: analysis of bcl-1 rearrangements and expression of the cyclin D1 gene. *Blood* 1994; 83: 756-60.
 28. Hockenberry D, Nunez G, Milliman C, Screber RD, Korsmeyer SJ. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 1990; 348: 334-6.
 29. Fukuhara S, Rowley JD, Variakojis D, Golomb HM. Chromosome abnormalities in poorly differentiated lymphocytic lymphoma. *Cancer Res* 1979; 39: 3119-31.
 30. Yunis JJ, Frizzera G, Oken M, McKenna J, Theologides A, Arnesin M. Multiple recurrent genomic defects in follicular lymphoma. *N Engl J Med* 1987; 316: 79-84.
 31. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science* 1984; 226: 1097-9.
 32. Pezzela F, Tse AGD, Cordell JL, Pulford KAF, Gatter KC, Mason DY. Expression of the bcl-2 oncogene protein is not specific for the 14;18 chromosomal translocation. *Am J Pathol* 1990; 137: 225-32.
 33. Gaulard P, d'Agay MF, Peuchmaur M, et al. Expression of the bcl-2 gene product in follicular lymphoma. *Am J Pathol* 1992; 140: 1089-95.