

공격성 자연세포독성세포백혈병 환자에서 치료 반응 지표로서 EBV-DNA 정량 검사를 이용한 1예

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 ¹내과, ²병리과, ³진단검사의학과

이성윤¹ · 김효송¹ · 전현정¹ · 양지현¹ · 고영혜² · 기창석³ · 김원석¹

Quantifying the Circulating Epstein-Barr Virus (EBV) DNA to Monitor a Case of Aggressive Natural Killer Cell Leukemia

Seong Yoon Yi, M.D.¹, Hyo Song Kim, M.D.¹, Hyun Jung Jun, M.D.¹, Ji Hyun Yang, M.D.¹,
Young H. Ko, M.D.², Chang-Seok Ki, M.D.³ and Won Seog Kim, M.D.¹

Departments of ¹Internal Medicine, ²Pathology, ³Laboratory Medicine, Samsung Medical Center,
Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Epstein-Barr virus (EBV) infection is associated with various lymphoproliferative diseases, including Hodgkin lymphoma, extranodal NK/T cell lymphoma, aggressive NK cell leukemia, Burkitt lymphoma and post-transplant lymphoproliferative disorder. In the recent studies, the plasma EBV-DNA levels in patients with EBV-associated lymphoproliferative disease appeared to be correlated with the therapeutic response. Aggressive NK cell leukemia (ANKL) is a fatal disease that's characterized by high fever, lymphadenopathy, hepatosplenomegaly and frequent hemophagocytosis. No serological tumor marker for this malignancy has yet been identified for monitoring the disease and predicting the outcome. We experienced a case of aggressive natural killer cell leukemia in a 48-year-old man, and we serially monitored the plasma EBV DNA load by performing real time quantitative PCR assay. Serial measurements of the plasma EBV DNA level during therapy showed a close correlation between the clinical response and the changes in the plasma EBV DNA titers. (*Korean J Hematol* 2007;42:167-171.)

Key Words: Aggressive natural killer cell leukemia (ANKL), Epstein Barr virus (EBV), Real time quantitative PCR

접수 : 2007년 3월 22일, 수정 : 2007년 3월 30일

승인 : 2007년 5월 29일

교신저자 : 김원석, 서울시 강남구 일원동 50번지

☎ 135-710, 성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 혈액종양내과

Tel: 02-3410-6548, Fax: 02-3410-0041

E-mail: wskimsmc@smc.samsung.co.kr

Correspondence to : Won Seog Kim, M.D.

Department of Internal Medicine, Samsung Medical Center,
Sungkyunkwan University School of Medicine

50, Ilwon-dong, Gangnam-gu, Seoul 135-710, Korea

Tel: +82-3410-6548, Fax: +82-3410-0041

E-mail: wskimsmc@smc.samsung.co.kr

서론

엡스타인바 바이러스(EBV)와 연관성이 알려진 림프 세포증식질환으로 호지킨림프종을 포함하여 비형(nasal type) 림프절외 NK/T세포림프종, 공격성 자연세포독성 세포백혈병, 버킷림프종, 이식 후 림프증식질환 등이 있으며 이들 질환을 가진 환자의 조직과 혈장에서 제자리 부합법(in situ hybridization), 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)과 같은 방법을 통해 EBV-DNA를 확인할 수 있다.¹⁾ 최근 이러한 EBV 관련 림프 세포증식질환 환자에서 실시간 정량 중합효소연쇄반응(real-time quantitative PCR)을 이용하여 혈장 EBV-DNA 역가를 분석 추적하였을 때, 이들 DNA 정량 변화와 치료 반응 사이에 상관 관계가 있어, 이를 치료효과와 예후판정의 유용한 종양표지자로 이용할 수 있다는 연구가 보고되었다.²⁻⁴⁾ 공격성 자연세포독성세포백혈병은 매우 드문 질환으로 발열, 림프절병증, 간비장비대, 파중혈관내응고와 혈구포식(hemophagocytosis) 등 양상을 보이고, 면역표현형검사서 CD2 양성, 표면 CD3 음성, CD56 양성을 나타내며,⁵⁻⁷⁾ 앞에서 언급하였듯 종양 세포에서 시행한 EBV에 대한 제자리부합법상 양성을 보이는 경우가 흔하다. 예후는 진단 후 평균 2개월로 극히 불량스러우며, 아직 치료 효과와 예후 판정에 이용할 수 있는 임상적 지표가 없는 실정이다. 저자들은 골수 생검을 통해 진단한 공격성 자연세포독성세포백혈병 환자에서 실시간 정량 중합효소연쇄반응을 이용하여 측정된 EBV-DNA 역가와 치료 반응 사이에 연관성을 확인, 치료효과의 지표로 이용한 1예를 보고하고자 한다.

증례

환자: 소○○, 48세, 남자

주소: 지속적인 발열, 근육통, 전신 쇠약감

현병력: 내원 1개월 전부터 시작된 발열과 전신 쇠약감을 주소로 다른 병원을 방문하여 시행한 일반 혈액 검사상 범혈구감소증과 골수 검사상에 혈구포식 소견 보여 본원으로 전원되었다.

과거력 및 가족력: 특이 사항 없음.

신체검사 소견: 내원 시 혈압은 107/61mmHg, 맥박은 분당 112회, 호흡수는 분당 20회, 체온은 39.3°C였으며 의식은 명료하였다. 결막은 창백하였으나 공막에 황달 소견은 없었고 경부 종괴는 만져지지 않았다. 흉부 청진상 수포음은 들리지 않았고 심음은 심잡음 없이 규칙적

이었으며 복부진찰에서 간, 비장은 만져지지 않았고 사지의 함요 부종은 없었다.

검사 소견: 진단 당시 일반 혈액 검사상 백혈구 4,050/ μ L, 혈색소 11.2g/dL, 혈소판 51,000/ μ L이었으며, 말초 혈액바른표본상 정적혈구 정색소성 빈혈과 적혈구 부동변형증이 관찰되었다. 호중성백혈구감소증과 백혈구 내 독성과립이 보였으나 모세포는 관찰되지 않았다. 혈액 생화학적 검사상 AST 60IU/L, ALT 162IU/L, ALP 77IU/L, 총단백질 5.9g/dL, 알부민 3.1g/dL, 총빌리루빈 2.0mg/dL, BUN 17.8mg/dL, creatinine 1.02mg/dL, LDH 2,216IU/L이었다. 적혈구 침강 속도 4mm/h, C 반응 단백질 1.43mg/dL이었다. 혈액응고 검사상 PT 62% (INR 1.41), aPTT 44.3 sec, fibrinogen 155mg/dL이었다. 혈청학적 검사상 HBs Ag 음성, HBs Ab 양성, HCV Ab 음성, HIV Ab 음성, CMV IgM 음성, EV-VCA IgG 양성, EB-VCA IgM 음성, EV-EA 음성, EVNA 양성이었다.

방사선 소견: 흉부단순 촬영에서 이상 소견 보이지 않았고, 복부 컴퓨터단층촬영상 비장이 13cm로 경도로 비대해 보였고, 복강 전반적으로 림프절이 커져 있었다.

골수 흡인 및 생검 소견: 골수 흡인 검사에서 모세포는 전체 절대호중구수의 1.7%였으며 조직구가 증가되어 있고 혈구포식 조직구가 빈번하게 관찰되었다. 크기가 크고 다양하며, 풍부한 세포질에 많은 아주르친화 과립을 가진 비전형림프구가 많이 관찰되었고(Fig. 1), 이러한 비전형림프구에 대한 흐름세포측정에서 CD 2, CD 7 양성, CD 56 양성, CD 3과 CD 5는 음성 소견을 보였다. 골수 생검에서 세포 충실성은 70%로 증가되어 있었

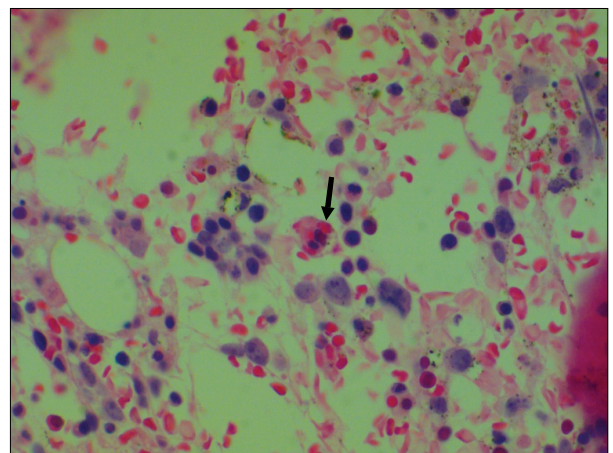


Fig. 1. The bone marrow shows focal infiltration by monotonous neoplastic cells, which are admixed with hemophagocytic histiocytes (arrow) (H&E stain, $\times 400$).

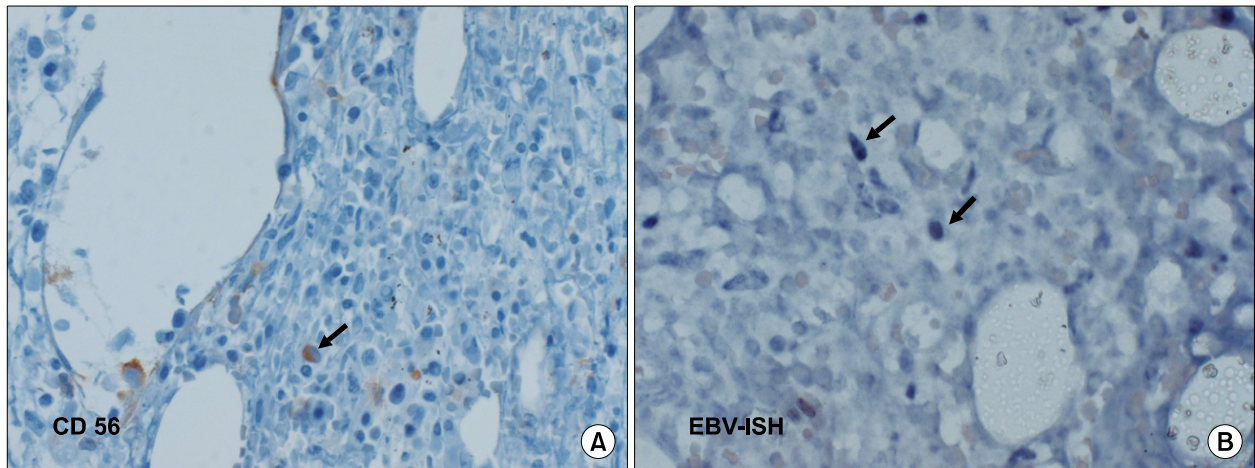


Fig. 2. (A) The neoplastic cells are positive for CD 56 (arrow) (immunohistochemistry, $\times 100$), (B) In situ hybridization for EBV shows staining of tumor cells (arrows) (EBV-ISH, $\times 400$).

고, 비전형림프구에 대한 CD 2 염색 양성, CD 3 음성, CD 56 양성(Fig. 2A)이고, EBV에 대한 제자리부합법 상 종양세포에 염색되는 양상(Fig. 2B)으로 공격성 자연세포독성세포 백혈병을 진단하였다.

치료 및 경과: 진단 시 말초 혈액에서 시행한 EBV에 대한 실시간 정량 중합효소연쇄반응 검사(LightCycler® EBV Quantification Kit, Roche) 결과는 526.10 copies/reaction이었다(Fig. 3). 발열이 지속되었고 범혈구감소증, 파종혈관내응고, 간기능 검사 악화되어 내원 5일째부터 CVP (cyclophosphamide, vincristine, prednisolone) 항암화학요법을 시작하였다. 환자는 항암 치료 후 일시적으로 발열이 떨어지고 간기능 검사 수치가 호전되는 양상을 보였으나, 치료 시작 10일째 다시 발열이 발생하고 전신 상태가 악화되어 CHOEP (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, etoposide, prednisolone) 항암화학요법을 시행하였다. 1차 CHOEP 항암 화학 요법 이후 실시한 EBV에 대한 실시간 정량 중합효소연쇄반응 검사 결과는 53.57 copies/reaction으로 치료 전과 비교하여 감소한 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 2차 CHOEP 시행 전 측정된 EBV-DNA 역가는 94.75 copies/reaction으로 비교적 일정하게 유지되었으나, 3차 CHOEP 시행 후 13일째 다시 발열, 전신 근육통을 호소하여 시행한 EBV에 대한 실시간 정량 중합효소연쇄반응 검사 결과 733.40 copies/reaction으로 증가하면서 이후 총빌리루빈을 포함한 간기능 검사가 악화되었다(Fig. 3). 3차례 CHOEP 시행 후 치료 시작 2개월째 구제 치료로 자가 조혈모세포 이식을 시행하였으나 자가 조혈모세포 이식 후 7일째, 범혈구감소증 상태에서 다량의 객혈이 시작되었고, 미만성허파파리출혈이 의심되

는 상태로 치료에 반응 없이 객혈이 지속되어 사망하였다.

고 찰

1964년 버킷림프종 환자의 조직에서 처음으로 엡스타인바 바이러스(EBV)가 동정된 이후, EBV와 연관성이 알려진 림프증식성질환으로는 버킷림프종 외에도 호지킨림프종, 이식 후 림프증식질환, 림프절의 NK/T세포림프종 등이 보고되었다. 1990년 Imamura 등⁸⁾에 의해 처음 언급된 공격성 자연세포독성세포백혈병은 매우 드문 질환으로 전신의 림프절병증, 간비장비대, 혈구 포식 등을 특징적으로 보이고, 골수 조직에서 풍부한 세포질 내에 아주르친화(azurophilic) 과립을 가진 대과립구성림프구의 침윤을 확인할 수 있으며,^{5,7,9)} 원인은 아직 정확하게 알려져 있지 않으나 림프절의 NK/T세포림프종과 마찬가지로 EBV와 관련된 질환군으로 추정되고 있다.^{7,10-12)} 종양 세포의 면역표현형은 CD 2 양성, 표면형 CD 3 음성, CD 5 음성, CD 16 양성, CD 56 양성, HLA-DR 양성, TCR 음성이며 진단에 절대적인 것은 아니나 대다수에서 제자리부합법이나 서던블롯분석에 의해 EBV 감염이 확인된다.⁷⁾ 림프절의 NK/T세포림프종과 비교해서 공격성 자연세포독성세포백혈병이 좀 더 젊은 연령(median: 42세)에서 발생하며, 광범위한 림프절병증과 간 및 비장 침범이 흔하다는 점, 예후가 더 나쁘고 치료에 대한 반응이 좋지 않은 점 등의 차이를 보인다. 일부 환자에서 예외적으로 수년간의 생존이 보고되기도 했으나, 평균 생존기간이 약 2개월 가량으로 예후가 극히 불량한 것으로 알려져 있다.^{5,7,9,13)} 빈도가 드

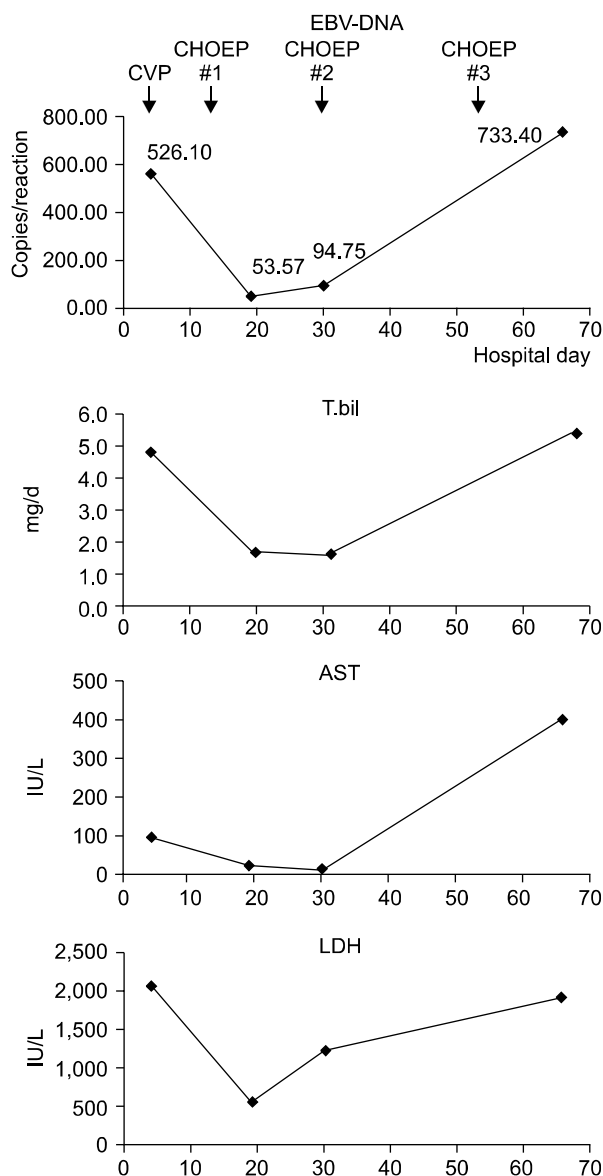


Fig. 3. Serial measurements of plasma EBV DNA level during therapy showed a close correlation between EBV-DNA titer and liver function test (total bilirubin, AST, LDH).

물고, 진단 후 생존 기간이 짧아 치료에 대한 객관적인 연구가 부족한 상태로 복합 항암 요법과 조혈모세포 이식 등이 치료로 시도되고 있으며, 그 중 일부 증례에서 적극적인 조혈모세포이식으로 치료에 성공한 경우가 보고되고 있다.^{14,15)} 림프절외 NK/T세포림프종이나 공격성 자연세포독성세포백혈병에서 예후를 예측하고, 치료 반응을 평가하며, 관해 후 질병 재발을 조기 확인할 수 있는 유용한 종양표지자가 없는 실정이나, 최근 EBV 양성 림프종 환자에서 실시간 정량 중합효소연쇄 반응을 이용하여 혈장 EBV-DNA 역가를 순차적으로

측정하였을 때, 역가 변화와 임상 경과 간에 상관 관계가 있다는 일부 연구가 있었다.²⁻⁴⁾ 본 증례에서 역시 말초 혈액을 통해 얻은 혈장에서 실시간 정량 중합효소연쇄반응을 이용하여 EBV-DNA 변화를 측정하였고, 그 결과 EBV-DNA 역가 변화와 객관적인 간기능 검사 수치(총빌리루빈, ALT, LDH)를 포함한 다른 임상 경과 사이에 유의한 관계가 있음을 관찰할 수 있었다. 향후 공격성 자연세포독성세포백혈병 환자에서 임상 경과와 EBV-DNA와의 연관성에 대해서는 보다 많은 연구를 통한 확인이 필요하리라 생각되며, 공격성 자연세포독성세포백혈병 외에도 상대적으로 빈도가 흔한 림프절외 NK/T세포림프종, 호지킨림프종과 같은 EBV와 관련이 알려진 다른 림프증식질환에 대한 적용 역시 검증이 필요한 부분이다.

요 약

공격성 NK세포백혈병은 EBV와 연관성이 알려진 림프증식성질환으로 발열, 림프절병증, 간비장비대, 파종혈관내응고, 혈구포식 등의 임상 양상으로 나타나며, 예후가 극히 불량스러운 것으로 알려져 있고, 아직 치료 효과와 예후 판정에 이용할 수 있는 임상적 지표가 없는 실정이다. 저자들은 발열 등을 주소로 내원한 48세 남자에서 골수 조직 검사를 통해 특징적인 면역표현형(CD2+, CD3-, CD56+ 등)과 EBV 제자리중합법을 통해 공격성 NK세포백혈병을 진단하였고, 실시간 정량 중합효소연쇄반응을 통해 측정한 혈장 EBV-DNA 수치와 임상 경과 사이에 상관 관계가 있음을 관찰할 수 있었다.

참 고 문 헌

- 1) Gulley ML. Molecular diagnosis of Epstein-Barr virus-related diseases. *J Mol Diagn* 2001;3:1-10.
- 2) Au WY, Pang A, Choy C, Chim CS, Kwong YL. Quantification of circulating Epstein-Barr virus (EBV) DNA in the diagnosis and monitoring of natural killer cell and EBV-positive lymphomas in immunocompetent patients. *Blood* 2004;104:243-9.
- 3) Lei KI, Chan LY, Chan WY, Johnson PJ, Lo YM. Diagnostic and prognostic implications of circulating cell-free Epstein-Barr virus DNA in natural killer/T-cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2002;8:29-34.
- 4) Lei KI, Chan LY, Chan WY, Johnson PJ, Lo YM. Quantitative analysis of circulating cell-free Epstein-

- Barr virus (EBV) DNA levels in patients with EBV-associated lymphoid malignancies. *Br J Haematol* 2000;111:239-46.
- 5) Ruskova A, Thula R, Chan G. Aggressive natural killer-cell leukemia: report of five cases and review of the literature. *Leuk Lymphoma* 2004;45:2427-38.
- 6) Murdock J, Jaffe ES, Wilson WH, McManus DT, Alexander HD, Morris TC. Aggressive natural killer cell leukemia/lymphoma: case report, use of telesynergy and review of the literature. *Leuk Lymphoma* 2004;45:1269-73.
- 7) Song SY, Kim WS, Ko YH, Kim K, Lee MH, Park K. Aggressive natural killer cell leukemia: clinical features and treatment outcome. *Haematologica* 2002; 87:1343-5.
- 8) Imamura N, Kusunoki Y, Kawa-Ha K, et al. Aggressive natural killer cell leukaemia/lymphoma: report of four cases and review of the literature. Possible existence of a new clinical entity originating from the third lineage of lymphoid cells. *Br J Haematol* 1990; 75:49-59.
- 9) Suzuki R, Suzumiya J, Nakamura S, et al. Aggressive natural killer-cell leukemia revisited: large granular lymphocyte leukemia of cytotoxic NK cells. *Leukemia* 2004;18:763-70.
- 10) Mori N, Yamashita Y, Tsuzuki T, et al. Lymphomatous features of aggressive NK cell leukaemia/lymphoma with massive necrosis, haemophagocytosis and EB virus infection. *Histopathology* 2000;37:363-71.
- 11) Kwong YL, Chan AC, Liang RH. Natural killer cell lymphoma/leukemia: pathology and treatment. *Hematol Oncol* 1997;15:71-9.
- 12) Akashi K, Mizuno S. Epstein-Barr virus-infected natural killer cell leukemia. *Leuk Lymphoma* 2000;40: 57-66.
- 13) Kwong YL, Chan AC, Liang R, et al. CD56+ NK lymphomas: clinicopathological features and prognosis. *Br J Haematol* 1997;97:821-9.
- 14) Takami A, Nakao S, Yachie A, et al. Successful treatment of Epstein-Barr virus-associated natural killer cell large granular lymphocytic leukaemia using allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1998;21:1279-82.
- 15) Teshima T, Miyaji R, Fukuda M, Ohshima K. Bone-marrow transplantation for Epstein-Barr-virus-associated natural killer cell-large granular lymphocyte leukaemia. *Lancet* 1996;347:1124.