

## Masked t(8;21)을 보이는 급성골수성백혈병 1예

김현정<sup>1</sup> · 김명신<sup>1</sup> · 임지향<sup>1</sup> · 김용구<sup>1</sup> · 한경자<sup>1</sup> · 김성용<sup>2</sup> · 김희제<sup>2</sup>

가톨릭대학교 의과대학 진단검사의학교실<sup>1</sup>, 내과학교실<sup>2</sup>

### A Case of Acute Myeloid Leukemia with Masked t(8;21)

Hyunjung Kim, M.D.<sup>1</sup>, Myungshin Kim, M.D.<sup>1</sup>, Jihyang Lim, M.D.<sup>1</sup>, Yonggoo Kim, M.D.<sup>1</sup>, Kyungja Han, M.D.<sup>1</sup>,  
Sung Yong Kim, M.D.<sup>2</sup>, and Hee Je Kim, M.D.<sup>2</sup>

Departments of Laboratory Medicine<sup>1</sup> and Internal Medicine<sup>2</sup>, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

We report a case that revealed the characteristics of acute myeloblastic leukemia with maturation (AML-M2) on the morphology of the bone marrow biopsy and 45,X,-Y in conventional cytogenetic study, but was confirmed to have a typical *AML1/ETO* translocation by molecular studies using reverse transcriptase polymerase chain reaction and fluorescence in situ hybridization. Insertion of *ETO* gene on chromosome 8 into chromosome 21 in this patient resulted in the development of the chimeric gene, *AML1/ETO*, on the long arm of chromosome 21. Our final report on the patient's karyotype: 45,X,-Y,ish ins(21;8)(q22;q22)(*AML1+*,*ETO+*;*ETO+*,*AML1-*). In case typical morphologic features compatible with recurrent cytogenetic abnormalities are shown, molecular studies in addition to conventional cytogenetic study might be required to confirm the diagnosis. (*Korean J Lab Med* 2006;26:338-42)

**Key Words :** Masked t(8;21), AML-M2, t(8;21), Fluorescence in situ hybridization

## 서 론

t(8;21)(q22;q22)는 급성골수성백혈병에서 가장 흔하게 동반되는 염색체 이상 중의 하나로 전체 급성골수성백혈병에서 5-12% 정도를 차지하며 90% 이상이 French-American-British (FAB) 분류법으로 acute myeloblastic leukemia with maturation (AML-M2)로 표현된다[1-4]. t(8;21)(q22;q22)에서는 21번 염색체의 *AML1* (*RUNX1*) 유전자와 8번 염색체의 *ETO* 유전자의 전좌에 의해 *AML1/ETO* 융합 유전자가 8번 염색체에 생성되는데, 이 *AML1/ETO* 융합유전자는 역전사증합효소연쇄반

응(reverse transcriptase polymerase chain reaction, RT-PCR), 서던블롯분석(Southern blot analysis), 형광동소보합법(fluorescence in situ hybridization, FISH) 등의 분자유전학적 방법으로 검출할 수 있다. 그러나 대부분의 t(8;21)(q22;q22)은 통상적인 세포유전 검사로 검출이 가능하며 이를 동반한 급성골수성백혈병은 완전 관해율이 높고 예후가 좋은 질환이므로 정확한 검출이 치료 계획을 세우는데 중요하다. 드물게 통상적인 세포유전 검사로 검출이 안되고 분자유전학적 방법으로만 *AML1/ETO* 융합유전자가 검출되는 경우가 있는데, 이를 masked t(8;21)이라 표현하기도 하며 3개 이상의 염색체간 복합 전위(complex chromosomal translocation)에서의 예들이 보고되어 있다[5-9]. 저자들은 통상적 염색체 검사에서는 정상핵형을 보였으나, 형광동소보합법과 역전사증합효소연쇄반응으로 *AML1/ETO* 융합유전자가 검출된 masked t(8;21)을 동반한 급성골수성백혈병을 경험하였기에 보고하고자 한다.

접 수 : 2006년 5월 15일      접수번호 : KJLM1948  
수정본접수 : 2006년 9월 29일  
게재승인일 : 2006년 10월 08일  
교 신 저 자 : 김 용 구  
우 150-713 서울시 영등포구 여의도동 62  
가톨릭대학교 성모병원 진단검사의학과  
전화 : 02-3779-1759, Fax : 02-3779-2285  
E-mail : yonggoo@catholic.ac.kr

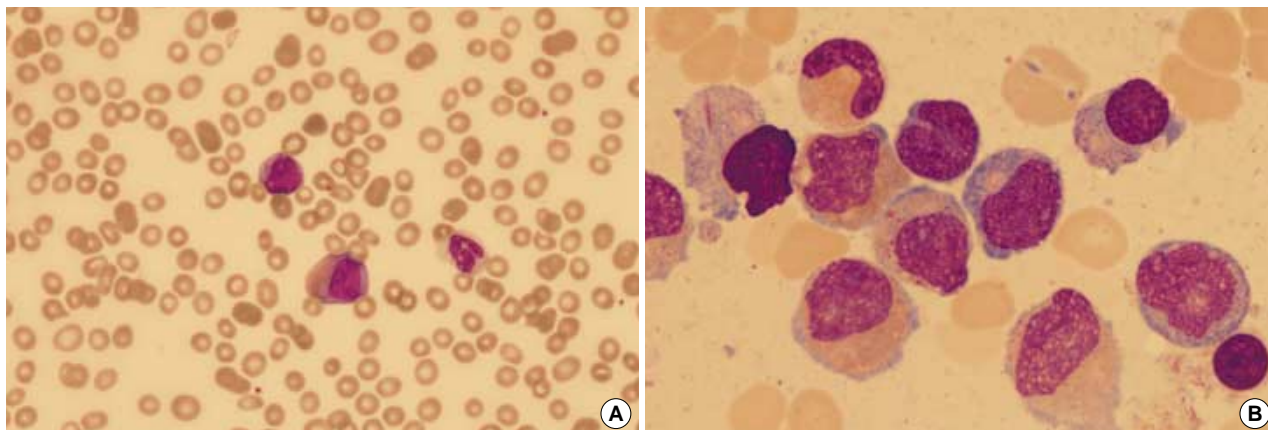


Fig. 1. Leukemic cells in (A) peripheral blood smear ( $\times 400$ ) and in (B) bone marrow aspirate smear ( $\times 1,000$ , Wight Giemsa stain). They reveal large sized, round to oval shaped nuclei with or without nucleoli and moderate to abundant cytoplasm with azurophilic granules. Some leukemic cells show large azurophilic granules (abnormal fusion), and Auer rods are occasionally found. They also show cytoplasmic staining abnormalities, including homogenous pink colored cytoplasm.

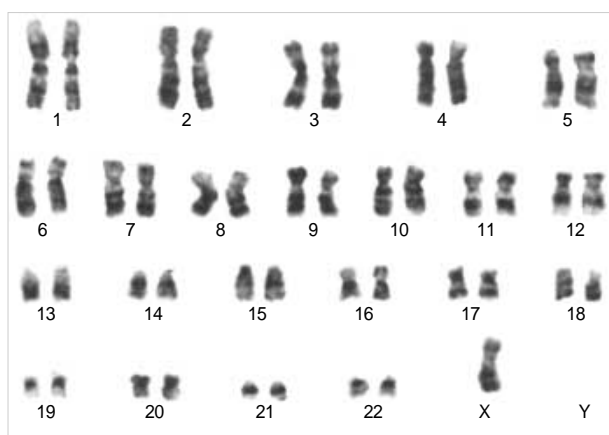


Fig. 2. The G-banded karyotype of the patient's bone marrow cells showing 45,X,-Y.

## 증례

**환자 :** 32세 남자

**현병력 :** 환자는 1개월 간의 어지럼증, 상기도 감염증, 운동시 호흡곤란증으로 인근병원을 방문하여 시행한 말초혈액 검사에서 백혈구 증가증과 함께 골수모구가 발견되어 본원으로 전원되었다.

**이학적 소견 :** 특이소견은 없었으며 림프절이나 간과 비장종대도 없었다.

**검사소견 :** 일반혈액검사에서 백혈구수  $23.67 \times 10^9/L$ , 혈색소 7.6 g/dL, 혈소판수  $8 \times 10^9/L$ 였으며, 백혈구 감별계산상 골수모구가 58% 관찰되었다. 골수검사항 세포충실도는 90%로 증가되어 있었고, 유헤세포 중 골수모구가 28%였으며 일부 골수모구에서 Auer rods가 관찰되었다. 골수모구는 크고 세포질이 풍부하며 호아주르 과립을 함유하고 myeloperoxidase 염색에서 강양성을 보여 환자는 FAB 분류법상 AML-M2에 해당하였다(Fig. 1). 면

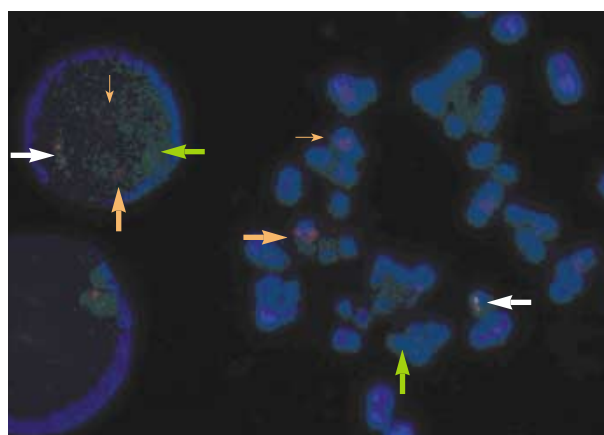


Fig. 3. FISH analysis with LSI *AML1* (orange)/*ETO* (green) dual color, dual fusion probe showed chromosome 8 (thick and thin orange arrows), one normal chromosome 21 (green arrow), and one fusion signal (white arrow) on chromosome 21, confirming the insertion of a fragment of *ETO* gene on chromosome 8 into the long arm of chromosome 21.

역표현형검사에서 CD33, CD13, CD117, HLA-DR, CD34, cytoplasmic myeloperoxidase에 양성하였고 CD64, CD7, CD14, CD19, CD41, CD56에 음성을 보였다. 골수 검체를 이용한 핵형 분석 결과 45,X,-Y[20]가 관찰되었다(Fig. 2). 그러나 골수 형태학적 소견이 AML-M2에 해당하므로 *AML1/ETO* 유무를 확인하기 위하여 역전사중합효소연쇄반응과 형광동소보합법을 시행하였다. LSI *AML1/ETO* dual color, dual fusion probe (Vysis, Downers Grove, IL, USA)를 사용하여 중기세포에 대한 형광동소보합법 시행결과 1개의 21번 염색체에서 *AML1/ETO* fusion signal이 관찰되는 세포가 200개 중 92%에서 관찰되었다. 1개의 8번 염색체는 정상적인 orange signal (8q22, *ETO*)을 나타내며, 다른 한 개의 8번 염색체에서는 크기가 작은 orange signal이 그리고

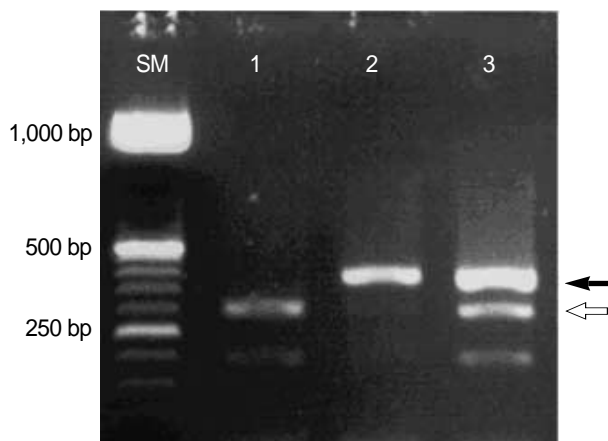


Fig. 4. RT-PCR for the *AML1/ETO* fusion transcript. SM, size marker; lane 3, patient. The black arrow indicates the *AML1/ETO* fusion transcript (393 bp) in the patient. The hollow arrow is the internal control band.

1개의 21번 염색체에서는 정상적인 green signal (21q22, *AML1*) 이 관찰되었다(Fig. 3).

역전사중합효소연쇄반응은 RNase inhibitor와 AMV reverse transcriptase (AMV First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-PCR, Roche, Germany)가 포함된 mixture를 사용하여 cDNA를 합성한 후, 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR) (DNA Engine Dyad Peltier Thermal Cycler, BIO-RAD)을 시행하였다. 중합효소연쇄반응은 95°C에서 5분 항온 후, 변성단계(denaturation) 95°C, 30초, 단련단계(annealing) 60°C, 30초, 연장단계(extension) 72°C, 30초로 40회 반복하였고, 마지막으로 72°C에서 7분간 반응시켰다. 중합효소연쇄반응 결과물은 2.5% 아가로오스겔에 100 volt에서 13분동안 전기영동을 시행하였다. 사용된 시발체 염기서열은 AML ETO-S primer: 5'-GGC TGG CAA TGA TGA AAA CT-3', AML ETO-AS Primer: 5'-GCC ATT CAA GGC TGT AGG AG-3'이다. 환자는 393 bp 위치에서 *AML1/ETO* 융합유전자를 확인하였다(Fig. 4). 형광동소보합법과 역전사중합효소연쇄반응에서 얻은 정보를 토대로 하여 최종 환자의 핵형을 45,X,-Y,ish ins(21: 8)(q22;q22q22)(*AML1+*, *ETO+*; *ETO+*, *AML1-*)로 보고하였다.

**치료 및 경과** : 환자는 idarubicin과 enocitabine으로 관해유도 화학요법을 실시하였다. 관해유도 화학요법을 실시한 후 56일째 시행한 추적 골수 검사에서 20%의 세포중실도, 골수모구 5% 미만으로 완전 관해 상태를 보이고, 형광동소보합법에서는 진단 당시 보였던 21번 염색체의 융합신호(fusion signal) 역시 관찰되지 않았다. 이후 FLANG (Fludarabine, Cytarabine, Mitoxantrone, G-CSF)을 이용한 강화화학요법 후 지속적인 관해상태에서 HLA 적합 비혈연 공여자를 이용한 말초혈액 조혈모세포이식(unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation, uPBSCT)을 시행하였고, 추적 골수검사상 정상 소견 보이며 형광동소보합법 및 역전사중합효소연쇄반응 검사에서도 *AML1/ETO* 융합유전자 음

성으로 현재까지 무병상태(disease-free state)로 외래에서 추적 관찰 중이다.

## 고 찰

AML-M2의 형태를 보이는 급성골수성백혈병 중 *AML1/ETO*를 동반하는 경우는 약 18% 정도이며 대부분 전형적인 t(8:21)을 보이지만 3.4% 정도에서 variant translocation의 핵형을 보인다. 또한 AML with t(8:21)(q22;q22)에서는 성염색체 이상, 특히 Y 염색체 소실(-Y)이 흔하게 동반된다[10-12]. 본 증례에서도 통상적인 핵형 분석에서 t(8:21)을 찾지 못했지만 골수의 특징적인 형태학적 소견과 -Y로 인해 t(8:21)을 의심하고 역전사효소 중합효소반응과 형광동소보합법의 분자생물학적 검사를 시행하게 되었다. 역전사중합효소연쇄반응으로는 융합유전자의 존재를 확인할 수 있었고 *AML1/ETO* dual color, dual fusion probe를 사용한 형광동소보합법 결과 21번 염색체에 융합신호가 관찰되어 통해 8번 염색체의 *ETO* 유전자가 21번 염색체의 21q22부위로 초현미경적 삽입(submicroscopic insertion)된 것을 확인할 수 있었다.

Masked t(8:21)는 세계적으로 현재까지 15예가 보고되어 있고 [5-9, 11-20] 국내에서는 본 증례가 처음이다. Masked t(8:21)에서 보이는 염색체 이상은 복잡 전위가 흔하며 최근에는 4개 염색체간의 전위도 보고되었다[5-9], 그리고 der(8), del(8), inv(8), i(8) 등 8번 염색체 이상이나[7, 8, 13] 본 증례와 비슷한 ins(21: 8)이 있으며 이 중 8개의 보고에서 형광동소보합법을 시행하여 정확한 핵형을 분석할 수 있었다[6-9, 13-16]. 국내 연구에 따르면 t(8:21) 중에서 통상적인 염색체검사에서는 음성이지만 형광동소보합법에서 양성으로 나오는 경우가 4.8% 정도로 보고되었다[21]. 따라서 골수검사상 형태학적으로 AML-M2의 특징을 나타내었으나 통상적인 세포유전 검사로 t(8:21)이 나오지 않은 경우 형광동소보합법 및 역전사중합효소연쇄반응 등의 분자유전 검사를 통해 AML with t(8:21)을 정확히 진단할 수 있을 것으로 생각된다.

Masked t(8:21)이 예후에 미치는 영향은 아직 정립되지 않았으며, Langabeer 등[20]은 masked t(8:21)이 t(8:21)과 동일한 완전관해율과 예후를 보인다고 보고한 반면, Sarrieta 등[15]은 완전관해율과 예후가 t(8:21) 보다 나쁜 것으로 보고하였다. 그 이유로 복합 염색체 재배열을 동반한 masked t(8:21)의 경우 염색체 불안정성(genetic instability)이 전형적인 t(8:21) 보다 많기 때문으로 설명하였다. 본 증례의 환자는 1차례 관해유도 화학요법으로 완전관해를 얻었고, 이후 1차례 강화화학요법으로 관해 상태를 잘 유지한 상태에서 조혈모세포이식을 받았다.

본 증례를 통하여 형광동소보합법 및 역전사중합효소연쇄반응을 포함한 분자유전검사를 이용하여 일반적인 핵형 분석에서 검출하지 못한 초현미경적 삽입(submicroscopic insertion)를 확인할 수 있음을 알 수 있었다. 골수검사상 반복적인 염색체 이상이 의심되는 전형적인 형태학적 특징을 보이는 경우, 고전적인 염색

체 검사 외에 분자유전검사를 추가하여 이상 유무를 확인하는 것이 필요하겠다.

## 요 약

저자들은 골수의 형태학적 소견상 acute myeloblastic leukemia with maturation (AML-M2)의 특징을 보인 환자에서 일반 염색체 검사상 45,X,-Y를 나타내었으나 역전사효소중합연쇄반응과 형광동소보합법 검사에서 *AML1/ETO* 전위를 확인한 예를 경험하였다. 환자는 8번 염색체의 *ETO* 유전자가 21번 염색체로 삽입(insertion)되어 21번 염색체 장완에 *AML1/ETO* 융합유전자(chimeric gene)가 생성됐으며 최종핵형은 45,X,-Y,ish ins(21;8)(q22;q22q22)(AML1+,ETO+;ETO+,AML1-)로 보고하였다. 본 증례처럼 골수검사에서 반복적인 염색체 이상이 의심되는 전형적인 형태학적 특징을 보이는 경우, 염색체 검사 외에 분자유전검사를 추가하여 이상 유무를 확인하는 것이 필요하다고 생각된다.

## 참고문헌

- Brunning RD and Matutes E. Acute myeloid leukemia with recurrent genetic abnormalities. In: Jaffe ES and Harris NL. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC Press, 2001:81-3.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. Br J Haematol 1976;33:451-8.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia: A report of the French-American-British Cooperative Group. Ann Intern Med 1985;103:620-5.
- Groupe Francias de Cytogenetique Hematologique. Acute myelogenous leukemia with an 8;21 translocation. A report on 148 cases. Cancer Genet Cytogenet 1990;44:169-79.
- Saitoh K, Miura I, Ohshima A, Takahashi N, Kume M, Utsumi S, et al. Translocation (8;12;21)(q22.1;q24.1;q22.1): a new masked type of t(8;21)(q22;q22) in a patient with acute myeloid leukemia. Cancer Genet Cytogenet 1997;96:111-4.
- Wong KF, Kwong YL, So CC. Translocation (8;20;21)(q22;q13;q22) in acute myeloblastic leukemia with maturation: a variant form of t(8;21). Cancer Genet Cytogenet 1998;101:39-41.
- Harrison CJ, Radford-Weiss I, Ross F, Rack K, le Guyader G, Veke-mans M, et al. Fluorescence in situ hybridization analysis of masked (8;21)(q22;q22) translocations. Cancer Genet Cytogenet 1999;112:15-20.
- Gamerding U, Teigler-Schlegel A, Pils S, Bruch J, Viehmann S, Keller M, et al. Cryptic chromosomal aberrations leading to an *AML1/ETO* rearrangement are frequently caused by small insertions. Genes Chromosomes Cancer 2003;36:261-72.
- Albano F, Specchia G, Anelli L, Liso A, Zagaria A, Santoro A, et al. Submicroscopic deletions in an acute myeloid leukemia case with a four-way t(8;11;16;21). Leuk Res 2005;29:855-8.
- The Fourth International Workshop on Chromosomes in Leukemia: a prospective study of acute nonlymphocytic leukemia. Chicago, Illinois, USA, September 2-7, 1982. Cancer Genet Cytogenet 1984;11:284-7.
- Berger R, Bernheim A, Daniel MT, Valensi F, Sigaux F, Flandrin G. Cytologic characterization and significance of normal karyotypes in t(8;21) acute myeloblastic leukemia. Blood 1982;59:171-8.
- Gallego M, Carroll AJ, Gad GS, Pappo A, Head D, Behm F, et al. Variant t(8;21) rearrangements in acute myeloblastic leukemia of childhood. Cancer Genet Cytogenet 1994;75:139-44.
- Andrieu V, Radford-Weiss I, Troussard X, Chane C, Valensi F, Guesnu M, et al. Molecular detection of t(8;21)/AML1-ETO in AML M1/M2: correlation with cytogenetics, morphology and immunophenotype. Br J Haematol 1996;92:855-65.
- Onozawa M, Fukuhara T, Nigo M, Takeda A, Takahata M, Yamamoto Y, et al. Insertion (21;8)(q22;q22q22): a masked t(8;21) in a patient with acute myelocytic leukemia. Cancer Genet Cytogenet 2003;147:134-9.
- Sanriera JE, Albitar M, Estrov Z, Gidel C, Aboul-Nasr R, Manshour T, et al. Comparison of outcome in acute myelogenous leukemia patients with translocation (8;21) found by standard cytogenetic analysis and patients with AML1/ETO fusion transcript found only by PCR testing. Leukemia 2001;15:57-61.
- Miyagi J, Kakazu N, Masuda M, Miyagi T, Toyohama T, Nakazato T, et al. Acute myeloid leukemia (FAB-M2) with a masked type of t(8;21) translocation revealed by spectral karyotyping. Int J Hematol 2002;76:338-43.
- Maseki N, Miyoshi H, Shimizu K, Homma C, Ohki M, Sakurai M, et al. The 8;21 chromosome translocation in acute myeloid leukemia is always detectable by molecular analysis using AML1. Blood 1993;81:1573-9.
- Maruyama F, Yang P, Stass SA, Cork A, Freireich EJ, Lee MS, et al. Detection of the *AML1/ETO* fusion transcript in the t(8;21) masked translocation in acute myelogenous leukemia. Cancer Res 1993;53:4449-51.
- Maruyama F, Stass SA, Estey EH, Cork A, Hirano M, Ino T, et al.

- Detection of *AML1/ETO* fusion transcript as a tool for diagnosing t(8;21) positive acute myelogenous leukemia. *Leukemia* 1994;8:40-5.
20. Langabeer SE, Walker H, Rogers JR, Burnett AK, Wheatley K, Swirsky D, et al. Incidence of *AML1/ETO* fusion transcripts in patients entered into the MRC AML trials. *Br J Haematol* 1997;99:925-8.
21. Lee DY, See CJ, Hwang CD, Cho HI, Lee DS. Analysis of discrepancies between G-banding and FISH in hematologic abnormalities. *Korean J Clin Pathol* 2001;21:445-50. (이동영, 시차자, 황치대, 조한익, 이동순. 혈액종양질환에서 G-banding과 FISH간의 불일치분석. 대한임상병리학회지 2000;21:445-50.)