

A Study of Mixed Phenotype Acute Leukemia Based on the 2008 World Health Organization Classification

Joonhong Park, M.D.¹, Hyojin Chae, M.D.¹, Myungshin Kim, M.D.¹, Jihyang Lim, M.D.¹, Yonggoo Kim, M.D.¹,
Jaewook Lee, M.D.², Nak Gyun Chung, M.D.², Bin Cho, M.D.², Hack Ki Kim, M.D.², Seok Lee, M.D.³, and Kyungja Han, M.D.¹

Departments of Laboratory Medicine¹, Pediatrics², and Internal Medicine³, The Catholic University of Korea College of Medicine, Seoul, Korea

Background : We evaluated the clinical significance of revised 2008 WHO classification needed to diagnose mixed phenotype acute leukemia (MPAL).

Methods : A total of 22 MPAL patients, previously diagnosed by applying the scoring system of the European Group for Immunological Classification of Acute Leukemias (EGIL) were reclassified based on the 2008 WHO classification.

Results : In 2008 WHO classification, the number of monoclonal antibodies (mAbs) required for assigning more than one lineage was markedly decreased, from 26 to 11, compared with that of EGIL. Seventeen of the 22 MPAL patients were reclassified as MPAL with following details: 6 MPAL with t(9;22)(q34;q11.2); *BCR-ABL1*, 1 MPAL with t(v;11q23); *MLL* rearranged, 7 MPAL, B/Myeloid, not otherwise specified (NOS) and 3 MPAL, T/Myeloid, NOS. Five patients were excluded from MPAL in the revised classification: 4 cytoplasmic myeloperoxidase (cMPO)-negative and 1 CD19-negative. The failure of complete remission achievement and occurrence of relapse were associated with poor prognosis ($P=0.0002$ and $P=0.009$, respectively). But the presence of Philadelphia chromosome was not significantly related with patient outcome ($P=0.082$). One patient with cCD79a, CD20, CD38, cMPO and CD15, whose diagnosis was reclassified from MPAL to AML has survived during the study period.

Conclusions : Because of decreased number of mAbs needed, it is possible that acute leukemia panel is designed to include all mAbs required to diagnose MPAL according to 2008 WHO classification. When diagnosing MPAL, it is critical to figure out positivity in either cMPO or CD19, and AML expressing more than 2 lymphoid antigens are considered as MPAL. (*Korean J Lab Med* 2010;30:525-32)

Key Words : Mixed phenotype acute leukemia (MPAL), 2008 WHO classification, Reclassification

서 론

급성백혈병의 약 5%를 차지하는 혼합표현형급성백혈병(mixed phenotype acute leukemia, MPAL)은 면역표현형검사 상 모세포가 B림프구계열과 골수구계열(B/MY), T림프구계열과

골수구계열(T/MY) 또는 B림프구계열과 T림프구계열(B/T)과 같이 두 가지 세포계열의 특징을 동시에 표현한다. 이러한 세포계열 간의 이종성(異種性)은 급성백혈병이 하나 이상의 세포계열로 분화할 수 있는 전구세포의 악성변형으로부터 진행하거나(lineage promiscuity) 정상조혈모세포의 분화에서는 관찰되지 않는 비정상적인 유전자 조절로 인해 발생하는 것으로 생각된다(lineage infidelity)[1, 2].

2001 세계보건기구(WHO) 분류에서 MPAL 진단에 채택된 European Group for Immunological Classification of Acute Leukemias (EGIL) 지침은 백혈병모세포에 의해 표현된 골수구계열 또는 림프구계열 항원의 수와 특이도에 근거하고 있다[3-6]. 2008년 WHO 분류에서는 MPAL 진단에 필요한 항원

Received : March 18, 2010 Manuscript No : KJLM10-049
Revision received : September 27, 2010
Accepted : October 12, 2010
Corresponding author : Kyungja Han, M.D.
Department of Laboratory Medicine, Seoul St. Mary's Hospital,
505 Banpo-dong, Seocho-gu, Seoul 137-701, Korea
Tel : +82-2-2258-1644, Fax : +82-2-2258-1719
E-mail : hankja@catholic.ac.kr

ISSN 1598-6535 © The Korean Society for Laboratory Medicine

Table 1. Requirements for assigning more than one lineage to a single blast population [7]

Myeloid lineage
Myeloperoxidase (flow cytometry, immunohistochemistry or cytochemistry) or monocytic differentiation (at least 2 of the following: NSE, CD11c, CD14, CD64, lysozyme)
B lineage*
Strong CD19 with at least 1 of the following strongly expressed: CD79a, cCD22, CD10 or weak CD19 with at least 2 of the following strongly expressed: CD79a, cCD22, CD10
T lineage
cCD3 (flow cytometry with antibodies to CD3 epsilon chain; immunohistochemistry using polyclonal anti-CD3 antibody may detect CD3 zeta chain, which is not T-cell specific) or Surface CD3 (rare in mixed phenotype acute leukemias)

* Multiple antigens required.

수를 간소화하였고 B림프구계열인 경우 CD19의 항원 유무와 강도에 따라 판정을 위한 항원 수를 달리하였다(Table 1)[7].

본 연구에서는 2006년 1월 1일부터 2009년 4월 30일까지 서울성모병원에서 진단된 22명의 MPAL 환자들을 2008 WHO 분류를 기준으로 재분류하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2006년 1월 1일부터 2009년 4월 30일까지 서울성모병원에서 진단된 22명의 MPAL 환자들을 대상으로 하였다.

2. 2008 WHO 분류에 근거한 MPAL의 재분류

2008 WHO 분류에 근거한 MPAL의 재분류를 위해 면역표현형검사와 21명의 환자와 15명의 환자를 대상으로 각각 염색체검사와 FISH 검사를 시행하였다(Table 2).

면역표현형검사는 유세포분석기(FACScan, Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)를 사용하여 forward scatter (FSC)와 side scatter (SSC) 지표는 linear scale로, 형광강도는 log scale로 맞춘 후 각 항원마다 20,000개의 골수유헤세포 분석 결과를 저장하였다. FSC와 SSC 지표에서 전체 골수유헤세포 중 단핵구 구획에서 음성대조가 98% 이상이 포함되는 곳을 기준으로 선정하여 각 세포표면항원에 대하여 양성세포비율 및 두 가지 항원동시양성세포비율을 구하였다. 단핵구 이외의 세포오염에 의한 오차를 없애기 위해 단핵구가 속하는 CD45 양성, CD14 음성, CD33 음성인 세포의 비율을 100%로 환산했

을 때의 상대적인 백분율을 구하였다. 항원양성의 기준은 세포표면항원인 경우 백혈병모세포가 전체유헤세포의 20% 이상, 세포질항원인 경우 10% 이상인 경우로 각각 정의하였다. Non-specific esterase (NSE)는 Esterase stain kit (Muto Pure Chemicals, Tokyo, Japan)로 골수흡입도말을 염색하여 양성 유무를 확인하였다.

염색체검사는 골수흡입검체를 fetal bovine serum (FBS), L-glutamin, P-streptomycin을 첨가한 Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 배지에 접종 후 phytohemagglutinin (PHA) 0.2 mL를 첨가하여 72시간 동안 배양한 후 G-분염법으로 염색하여 최소 20개 이상의 중기세포를 관찰하였다. 클론성 염색체 이상은 동일한 구조적 이상 또는 획득이 2개 이상의 중기세포에서 관찰될 때, 또는 동일한 염색체가 3개 이상의 중기세포에서 소실된 경우로 정의하였으며, 성염색체 소실이 3개 이상 중기세포에서 관찰되는 경우로 정의하였다. 복합염색체 이상은 5개 이상의 단일염색체 이상이 관찰된 경우로 정의하였다.

FISH 검사는 골수검체를 이용하여 제조한 슬라이드에 LSI *BCR/ABL* Dual Color, Dual Fusion Translocation Probe, LSI *MLL* Dual Color, Break Apart Rearrangement Probe, LSI *TEL/AML1* ES Dual Color Translocation Probe, LSI p16 (9p21) Spectrum Orange/CEP 9 Spectrum Green Probe, LSI MYB (6q23) Spectrum Aqua Probe (Abbott molecular Inc., Des plaines, IL, USA)를 이용하여 시행하였고 최소 400개 이상의 간기세포를 분석하였다.

MPAL의 진단기준은 면역표현형검사상 골수구계열은 cytoplasmic myeloperoxidase (cMPO)가 양성인 경우, 그리고 단구계열은 5개의 특이항원(NSE, CD11c, CD14, CD64, lysozyme) 중 2개 이상의 항원이 양성인 경우로 정의하였다. B림프구계열은 CD19 항원이 약양성과 강양성인 경우로 나누어 CD79a, cCD22, CD10 항원의 양성 개수가 각각 1개와 2개인 경우로 정의하였다. 항원의 평균형광강도(mean fluorescence intensity, MFI)는 10^0 에서 10^2 까지는 약양성, 10^2 이상은 강양성으로 정의하였다[8]. T림프구계열은 세포표면 및 세포질 CD3 항원이 양성인 경우로 정의하였다. MPAL의 재분류는 MPAL의 진단기준을 만족하면서 염색체검사와 FISH 검사상 *t*(9;22) 전좌 또는 *BCR-ABL1* 재배열이 관찰되거나 *MLL* 유전자를 포함한 전좌가 관찰된 경우 각각 MPAL with *t*(9;22)(q34;q11.2); *BCR-ABL1*과 MPAL with *t*(v;11q23); *MLL* rearranged로 정의하였다. 그리고 *BCR-ABL1*이나 *MLL* 재배열과 같은 유전자 이상을 동반하지 않으면서 B림프구계열과 골수구계열이 동시양성인 경우 MPAL, B/myeloid, not otherwise specified (NOS), T림

Table 2. Treatment and prognosis in total 22 patients

No. case	Sex/Age	Chromosome study	ALGST	CR	Post-remission therapy	Relapse	Survival
1	M/9	47,XY,+X[15]/46,XY[5]	Negative	CR	CTx	NR	Alive (59+d)
2	M/10	46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[10]/46,XY[10]	t(9;22)-BCR/ABL e1a2	NCR	-	-	Died (41d)
3	M/31	47,XY,t(10;11)(p13;q21),del(13)(q12q14), t(17;19)(q11.2;p13.3), +der(19)t(17;19) [12]/46,XY[8]	Negative	CR	CTx, Allo-BMT	NR	Alive (188+d)
4	F/34	46,XX,inv(7)(p15q34)[5]/46,XX[15]	Negative	NCR	-	-	Alive (223+d)
5	M/50	46,XY,t(4;11)(q21;q23)[20]	t(4;11)-MLL 1/AF4	CR	CTx, Allo-BMT	R(183d)	Alive (316+d)
6	M/22	71<3n>,XXY,+2,t(2;7)(p10;p10)x2,+5,-7, +8,-9,t(9;22)(q34;q11.2)x2,+10,+17,-18, -20[cp12]/46,XY[8]	t(9;22)-BCR/ABL e1a2	CR	CTx, Auto-BMT	NR	Alive (391+d)
7	M/65	39~41,XY,-3,-4,del(5)(q13q22),-6,-7,del(8) (q22),-9,-16,-17,-18,add(19)(q13.4),-20, dup(21)(q11.2q22),+1~3mar[cp20]	Negative	CR	CTx	R(213d)	Died (222d)
8	M/9	46,XY[20]	Negative	CR	CTx	NR	Alive (395+d)
9	F/11	46,XX[20]	Negative	CR	CTx	NR	Alive (430+d)
10	M/37	46,XY[20]	Negative	CR	CTx, Auto-PBSCT	R(121d)	Alive (450+d)
11	M/1	N/A	Negative	NCR	-	-	Died (24d)
12	F/53	45,XX,-7,t(9;22)(q34;q11.2)[20]	t(9;22)-BCR/ABL e1a2	CR	CTx	R(213d)	Died (246d)
13	M/43	46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[29]/46,XY[1]	N/A	CR	CTx	R(298d)	Alive (729+d)
14	M/60	46,XY,t(9;22)(q34;q11.2)[7]/46,XY[13]	t(9;22)-BCR/ABL e1a2	CR	CTx	R(61d)	Died (69d)
15	F/57	46,XX,der(5)t(5;9),der(9)t(9;22),der(22)t(9;22); (q34q11.2) t(5;9)(q13;q34)[20]	N/A	CR	CTx	R(153d)	Died (179d)
16	M/8	56,XY,+X,del(4)(q27q32),+der(4)t(1;4)(q12;q35), +6,+8,+10,+11,+14,+18,+21x2[cp10]/46,XY[10]	N/A	CR	CTx, Auto-PBSCT	NR	Alive (874+d)
17	M/46	46,XY[20]	N/A	NCR	-	-	Died (45d)
18	F/63	46,XX[20]	N/A	CR	CTx	R(92d)	Died (356d)
19	M/13	46,XY,-5,t(9;22)(q34;q11.2),+1~2r[cp20]	N/A	NCR	-	-	Died (14d)
20	M/6	46,XY,del(12)(p13),t(12;21)(p13;q22)[8]/46,XY[12]	N/A	CR	CTx	NR	Alive (1086+d)
21	F/9	46,XX,del(6)(q21),del(12)(p13),t(12;21)(p13;q22)[15]/ 46,XX[5]	N/A	CR	CTx	NR	Alive (1137+d)
22	F/58	87~90,XXXX,del(1)(p22p36.1),del(2)(q33),der(2)t(2;?) (q31;?), dic(7;18)(p13;p11.3)x2[cp17]/46,XX[3]	N/A	CR	CTx	R(214d)	Died (344d)

Abbreviations: ALGST, acute leukemia gene screening test; CR, complete remission; CTx, chemotherapy; NR, no relapse; NCR, no complete remission; Allo-BMT, allogeneic bone marrow transplantation; R, relapse; Auto-BMT, autologous BMT; Auto-PBSCT, autologous peripheral blood stem cell transplantation; N/A, not available.

프구계열과 골수구계열이 동시양성인 경우 MPAL, T/myeloid, NOS, B림프구계열과 T림프구 계열이 동시양성인 경우 또는 B림프구계열, T림프구계열, 골수구계열이 동시양성인 경우 MP-AL, NOS로 각각 정의하였다.

3. 통계분석

양호한 예후를 예측하는 임상적 지표로 완전관해 여부, 무재발생존, 전체생존 등을 분석하였다. 완전관해는 골수흡입도말 상 모세포가 5% 미만이고 골수 외 침범이 없으며 말초혈액도말 상 모세포가 존재하지 않고 절대호중구 수가 $1,000/\mu\text{L}$, 혈소판 수가 $100,000/\mu\text{L}$ 인 경우로 정의하였다[9]. 무재발생존은 완전관해 후 MPAL 재발까지 기간으로 정의하였고 전체생존은

MPAL 진단 후 환자사망까지 기간으로 정의하였다. 1차 완전관해여부, 무재발생존, 염색체 이상과 환자예후 간의 상관관계에 대하여 Kaplan-Meier법으로 생존분석하였고 log-rank test로 비교하였다. MPAL 환자를 진단 시 이용된 단클론항체가 연도별로 상이하여 면역표현형항원을 포함한 다변량분석은 시행하지 못하였다.

결 과

1. 2008 WHO 분류에 근거한 MPAL의 재분류

22명의 MPAL 환자 중, 남자가 15명이고 여자가 7명이었다. 진단 당시 연령의 중앙값은 32.5세(범위: 1-65)이었다. 2008

Table 3. Expression of immunophenotypic markers on leukemic blasts in total 22 patients

No. case	Myeloid lineage						B lineage				T lineage		Diagnosis
	cMPO	NSE	CD11c	CD14	CD64	Lysozyme	CD19	CD79a	cCD22	CD10	cCD3	CD3	
1	+	-	N/A	-	N/A	N/A	S+	S+	N/A	S+	-	-	B/MY, NOS
2	+	-	N/A	-	N/A	N/A	S+	S+	N/A	S+	-	-	MPAL c t(9;22)
3	+	-	N/A	-	N/A	N/A	W+	S+	+	-	-	-	MPAL c t(v;11q23)
4	+	-	N/A	-	N/A	N/A	W+	W+	+	-	-	-	B/MY, NOS
5	+	-	N/A	-	N/A	N/A	-	W+	N/A	-	-	-	AML
6	+	-	N/A	-	N/A	N/A	S+	S+	N/A	S+	-	-	MPAL c t(9;22)
7	+	-	N/A	-	N/A	N/A	S+	S+	N/A	-	-	-	B/MY, NOS
8	+	-	N/A	-	N/A	N/A	S+	S+	N/A	W+	-	-	B/MY, NOS
9	+	-	N/A	-	N/A	N/A	S+	S+	N/A	S+	-	-	B/MY, NOS
10	+	-	N/A	+	N/A	N/A	-	-	N/A	-	+	-	T/MY, NOS
11	-	-	N/A	-	-	N/A	-	N/A	-	-	+	N/A	T-ALL
12	+	-	N/A	-	-	N/A	W+	N/A	W+	S+	-	N/A	MPAL c t(9;22)
13	+	-	N/A	-	-	N/A	S+	+	W+	-	-	N/A	MPAL c t(9;22)
14	+	-	N/A	-	-	N/A	S+	N/A	S+	W+	-	N/A	MPAL c t(9;22)
15	-	-	N/A	-	-	N/A	W+	N/A	W+	W+	-	N/A	B-ALL c t(9;22)
16	+	-	N/A	-	+	N/A	S+	N/A	W+	S+	-	N/A	B/MY, NOS
17	+	-	N/A	-	-	N/A	-	N/A	-	-	+	N/A	T/MY, NOS
18	-	-	N/A	-	-	N/A	-	N/A	-	-	+	N/A	T-ALL
19	+	-	N/A	-	-	N/A	W+	+	W+	-	-	N/A	MPAL c t(9;22)
20	+	-	N/A	-	-	N/A	S+	N/A	S+	W+	-	N/A	B/MY, NOS
21	-	-	N/A	-	-	N/A	S+	N/A	S+	S+	-	N/A	B-ALL
22	+	-	N/A	-	-	N/A	-	N/A	-	-	+	N/A	T/MY, NOS

*Immunohistochemical stains done.

Abbreviations: cMPO, cytoplasmic myeloperoxidase; NSE, nonspecific esterase; +, positive; -, negative; N/A, not available; S+, strong positive; B/MY, NOS, MPAL, B/Myeloid, not otherwise specified (NOS); MPAL c t(9;22), MPAL with t(9;22)(q34;q11.2); *BCR-ABL1*; W+, weak positive; MPAL c t(v;11q23), MPAL with t(v;11q23); *MLL* rearranged; T/MY, NOS, MPAL, T/Myeloid, NOS; T-ALL, T lymphoblastic leukemia/lymphoma; B-ALL c t(9;22), B lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(9;22)(q34;q11.); *BCR-ABL1*.

WHO 분류에 의해 MPAL로 재분류된 환자는 22명 중 17명이었고 5명의 환자(5번, 11번, 15번, 18번, 21번)가 MPAL에서 제외되었다(Table 3). 3번, 4번 환자와 13번, 19번 환자는 각각 골수생검을 이용한 cCD22와 cCD79a에 대한 면역조직화학염색 결과 양성으로 관찰되어 MPAL로 재분류하였다.

Philadelphia 염색체[t(9;22) 또는 *BCR/ABL* 유전자재배열]은 7명(33.3%, 7/21)의 환자에서 관찰되어 가장 흔한 염색체 이상이었다. 6명은 MPAL with t(9;22)(q34;q11.2); *BCR-ABL1*으로, 1명은 cMPO 음성으로 B lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(9;22)(q34;q11.2); *BCR-ABL1*으로 각각 재분류하였다. 염색체검사상 t(10;11)(p13;q21)과 FISH 검사상 *MLL*(11q23) 전좌가 관찰된 1명의 환자는 MPAL with t(v;11q23); *MLL* rearranged로 재분류하였다. 두 명(9.5%, 2/21)의 환자에서 t(12;21)(p12;q23)과 FISH 검사결과 *TEL/AML1* 융합이 관찰되어 1명은 MPAL, B/Myeloid, NOS로 다른 1명은 cMPO 음성으로 B-ALL로 재분류하였다. 복합염색체 이상을 보인 3명(9.7%, 3/21)의 환자 중 2명은 MPAL, B/Myeloid, NOS로 1명은 MPAL, T/Myeloid, NOS로 각각 재분류하였다.

각각 +X, inv(7) 염색체 이상을 갖는 환자 2명은 MPAL, B/Myeloid, NOS로 t(4;11) 염색체 이상 환자는 CD19 음성으로 급성골수구성백혈병(AML)으로 재분류하였다. 5명(22.7%, 5/21)의 정상염색체핵형 환자는 MPAL, B/Myeloid, NOS 2명, MPAL, T/Myeloid, NOS 2명, 1명은 cMPO 음성으로 T림프모구성백혈병(T lymphoblastic leukemia, T-ALL)으로 각각 재분류하였다.

본 연구에서 2008 WHO 분류에 근거한 MPAL의 재분류 결과 MPAL with t(9;22)(q34;q11.2); *BCR-ABL1* 6예, MPAL with t(v;11q23); *MLL* rearranged 1예, MPAL, B/Myeloid, NOS 7예, MPAL, T/Myeloid, NOS 3예, ALL 4예(B-ALL 2, T-ALL 2), AML 1예이었다.

2. 치료 및 임상경과

연구기간 동안 생존한 환자들의 추적관찰기간의 중앙값은 393일(범위: 59-1,137일)이었다. 연구기간 동안 12명이 생존하였고 10명이 사망하였다. 전체생존의 중앙값은 281일(범위:

14-1,137일)이었다. 추적관찰기간 동안 2008 WHO 분류에 의해 재분류된 MPAL 환자군의 사망률은 41.2% (7/17)이었고 MPAL에서 제외된 환자군의 사망률은 60% (3/5)이었다. 사망한 환자들은 각각 Philadelphia 염색체를 동반한 B-ALL 환자 1명과 T-ALL 환자 2명이었다.

관해유도화학요법을 시행한 22명의 환자들 중 17명(77.3%, 17/22)의 환자들이 1차 완전관해가 되었고 1차 완전관해 환자들의 무재발생존 중앙값은 213일(범위: 59-1,137일)이었다. 완전관해가 되지 못한 5명의 환자들 중 4명이 사망하여 1차 완전관해에 도달하지 못하는 경우 예후가 불량하였다($P=0.0002$). 완전관해율은 B/MY 환자군(78.6%, 11/14)보다 T/MY 환자군(66.7%, 2/3)에서 더 낮았으나 T/MY 표현형과 환자생존율 간에 통계적 유의성은 없었다($P=0.549$). 2008 WHO 분류에 의해 재분류된 MPAL 환자군의 1차 완전관해율은 76.5% (13/17)이었고 MPAL에서 제외된 환자군의 1차 완전관해율은 80% (4/5)이었다. 완전관해가 된 17명의 환자들 중 9명(52.9%)이 재발하였고, 6명이 사망하여 재발한 경우 불량한 예후를 보였다($P=0.009$). 2008 WHO 분류에 의해 재분류된 MPAL 환자군의 재발률은 46.2% (6/13)이었고 MPAL에서 제외된 환자군의 재발률은 75% (3/4)이었다. 22명의 MPAL 환자 중에서 Philadelphia 염색체 양성환자는 7명(B/MY 6, B-ALL 1)이었고 5명이 사망하였으나 환자 생존율 간에 통계적 유의성은 없었다($P=0.082$).

고 찰

MPAL은 면역표현형적 측면에서 급성백혈병의 혼합형으로서 B/MY는 MPAL의 약 70%로 대부분을 차지하고 T/MY는 23-33%를 차지한다[10-13]. B/T 또는 B림프구계열, T림프구계열, 골수구계열이 동시양성인 경우는 극히 드물다. 본 연구에서도 2008 WHO 분류에 의하면 B/MY는 82.4% (14/17)이었고 T/MY는 17.6% (3/17)이었다. EGIL 지침에 의하면 B/MY는 77.3% (17/22)이었고 T/MY는 22.7% (5/22)이었다. MPAL에서 제외된 5명의 환자들 중, cMPO 음성인 B/MY 환자 2명은 각각 B lymphoblastic leukemia/lymphoma with t(9;22) (q34;q11); BCR-ABL1과 B-ALL, CD19 음성인 B/MY 환자 1명은 AML로 재분류하였고 cMPO 음성인 T/MY 환자 2명은 T-ALL로 재분류하였다.

비록 MPAL에서 특징적인 분자세포유전학적 이상이 관찰되지 않지만 Philadelphia 염색체가 B/MY 환자군의 17-41%에서 관찰되어 가장 흔한 염색체 이상으로 보고되었다[10-13]. 본 연구에서도 염색체검사를 시행한 21명의 환자 중 7명(33.3%,

7/21)의 환자에서 Philadelphia 염색체가 관찰되었다. 대부분의 연구에서 MPAL은 불량한 예후를 보이는데[11, 12, 14, 15] 그 이유는 B-ALL에서 불량한 예후를 시사하는 Philadelphia 염색체와 MLL(11q23) 전좌와 같은 염색체 이상 소견이 B/MY에서도 높은 빈도로 관찰되기 때문인 것으로 생각된다[11-14]. 따라서 불량한 예후인자를 동반한 MPAL 진단을 위해 급성백혈병유전자선별검사, 염색체검사 또는 FISH 검사를 면역표현형검사와 함께 시행하여야 한다. 본 연구에서도 재분류 전 17명의 B/MY 환자 중 6명이 Philadelphia 염색체 양성이었다고 4명이 사망하였으나 환자 생존율 간에 통계적 유의성은 없었다($P=0.058$). 소아 B-ALL에서 좋은 예후를 보이는 t(12;21) 염색체 이상을 동반한 환자 2명은 추적관찰기간 동안 모두 생존하여 MPAL에서도 좋은 예후인자임을 시사하였다[16, 17]. B-ALL 또는 MPAL에서 관찰되는 t(4;11) 염색체 이상은 보통 골수구계열 항원과 CD19가 양성이지만 본 연구에서는 CD19가 음성으로 AML로 재분류하였다[18, 19].

MPAL은 면역표현학적 관점에서 이종성(異種性)이므로 생물학적 특성과 예후인자에 따라 치료방침이 달라져야 한다[11, 13]. 특히 Philadelphia 염색체가 동반된 MPAL의 경우 Philadelphia 염색체 양성 B-ALL 치료와 동일하게 imatinib mesylate가 추가되어야 하고[20] 불량한 예후인자가 동반된 경우 조혈모세포이식치료와 같은 적극적인 치료가 필요하다[12]. 본 연구에서는 환자 연령과 형태학적 소견에 따라 MPAL의 치료방침이 달랐다. 소아 MPAL의 치료는 ALL과 유사한 형태학적 소견을 보이는 경우 ALL 치료와 동일하게 vincristine, prednisolone, asparaginase, daunorubicin으로 관해유도하여 완전관해 후 강화요법, 증강요법, 유지요법을 순차적으로 시행하였고 AML과 유사한 경우 daunorubicin, etoposide, cytarabine으로 관해유도하여 완전관해 시 강화요법 후 유지요법을 추가하였다. 성인 MPAL의 치료는 ALL 치료와 동일하게 modified CVAD 요법으로 cytarabine, vincristine, adriamycin, daunorubicin, dexamethasone으로 관해유도하여 완전관해 후 강화요법을 시행하고 환자의 질병상태에 따라 조혈모세포이식을 시행하였다. 본 연구에서 17명의 CR 환자들 중 5명의 환자가 관해 유지요법 후 조혈모세포이식(allo-BMT 2명, auto-BMT 1명, auto-PBSCT 2명)을 받았고 추적관찰기간 동안 모두 생존하였으나 환자의 생존율 간에 통계적 유의성은 없었다($P=0.093$). 추가적인 연구를 통해 MPAL 환자에 대한 조혈모세포이식의 치료적 의의가 밝혀질 것으로 생각된다. MPAL에서 제외된 환자들 중, AML로 재분류된 환자는 각각 염색체검사상 t(4;11) (q21;q23), 급성백혈병유전자선별검사상 t(4;11)-MLL/AF4가

관찰되었고 치료 후 재발하였으나 생존하였다. B-ALL로 재분류된 2명의 환자 중 Philadelphia 염색체가 동반된 B-ALL 환자는 치료 후 재발하여 사망하였으나 t(12;21)(p13;q22) 염색체 이상을 동반한 B-ALL 환자는 재발 없이 생존하였다. T-ALL로 재분류된 환자 2명은 연구기간 중 모두 사망하였다.

2008 WHO 분류에서는 골수구계열 진단 시 cMPO 항원 양성 여부만 확인하면 되고 단구계열 진단 시 5가지 단구세포 특이항원을 제시하고 2개 이상을 만족하도록 정의하였다. MPO는 단클론항체를 이용한 면역표현형검사가 효소적으로 불활성 상태의 MPO 전구체를 검출할 수 있어 세포화학검사법보다 유용하다[21]. B림프구계열 진단 시에는 CD19의 MFI에 따라 진단기준을 만족시키는 항원의 개수를 다르게 정의하여 CD19, CD79a, CD10, cCD22이 모두 면역표현형검사에 포함되어야 하고 CD19의 MFI에 대한 판정 기준도 각 검사실 간에 동일해야 할 것으로 판단된다. 본 연구에서는 CD19의 MFI를 각각 10^0 에서 10^2 까지는 약양성, 10^2 이상은 강양성으로 정의하였다. T림프구계열 진단 시에도 골수구계열과 동일하게 세포표면 및 세포질 CD3 항원 양성여부만 확인하면 되고 유세포분석기를 이용한 면역표현형검사 시에는 세포질 CD3 epsilon chain에 대한 단클론항체를 사용하도록 권고하였다. 따라서 MPAL 진단 시 EGIL 지침보다 검사해야 할 항원의 개수가 26개에서 11개로 현저히 감소하였다.

본 연구에서는 다음과 같은 제한점이 있었다. 먼저 연구기간 동안 연도별로 시행된 면역표현형검사에 사용된 단클론항체의 종류가 동일하지 않았다(Table 4). 2008 WHO 분류에서 제안된 항원들 중, 단구계열의 CD11c와 lysozyme이 연구기간 동안 시행한 면역표현형검사에서 포함되지 않았고, CD64는 2008년 1월부터 2009년 4월까지 시행한 면역표현형검사에서 제외되었다. B림프구계열에서는 2006년 1월부터 2007년 12월까지 시행한 면역표현형검사에서 CD79a가 포함되지 않았고 2008년 1

월부터 2009년 4월까지 시행한 면역표현형검사에서 CD79a가 포함되었으나 cCD22가 제외되었다. 그리고 MPAL에서 제외된 환자들 중, AML로 재분류된 환자가 연구기간 동안 생존하여 이 환자의 경우 EGIL 지침에 의한 진단이 더 유용하였다(cCD79a, CD20, CD38, cMPO, CD15 양성). 2개 이상의 림프구계열 항원을 표현하는 AML은 유전자재배열과 림프구계열 점수 간에 통계적 유의성을 보이므로 MPAL로 진단하는 것이 고려된다[21, 22].

결론적으로 MPAL 진단을 위한 2008 WHO 분류에 의하면 MPAL 진단에 필요한 단클론항체 수가 EGIL 지침보다 현저히 감소하여 MPAL 진단이 간소화되었다. 따라서 MPAL 진단에 필요한 단클론항체를 모두 포함하여 급성백혈병판별을 구성할 수 있어 MPAL의 진단민감도와 특이도를 높이고 검사의 효율을 높일 수 있을 뿐만 아니라 비용도 절감할 수 있다. 특히 MPAL의 치료는 보통 ALL과 동일하게 치료하지만 성인 MPAL의 경우 환자가 완전관해가 이루어졌어도 가능하면 조혈모세포이식을 추가적으로 시행하고 AML과 유사한 형태학적 소견을 보이는 소아 MPAL의 경우 유지요법을 추가하는 등 치료방침이 달라지므로 정확한 MPAL 진단이 중요하다. 본 연구에서는 2008 WHO 분류에 의해 22명의 MPAL 환자들 중, cMPO 음성인 MPAL 환자 4명이 각각 B-ALL 2명, T-ALL 2명으로, CD19 음성 MPAL 환자 1명이 AML으로 재분류되어 cMPO와 CD19의 진단적 가치가 강조되었다. B림프구계열 진단 시 CD19의 MFI에 따라 진단기준을 만족시키는 항원의 개수가 다르기 때문에 면역표현형검사 시 판독에 주의해야 한다.

요 약

배경 : 본 연구에서는 mixed phenotype acute leukemia (MPAL) 진단에 필요한 개정된 2008 세계보건기구(WHO) 분

Table 4. Annual update of immunological markers of flow cytometry

Annual	Lineages		
	Myeloid	B lymphoid	T lymphoid
2009 (present)	CD117, CD64, CD33, CD13, CD11c, cMPO	cCD79a, CD20, CD19, CD10, cCD22	CD7, CD5, CD2, cCD3
2008	CD117, CD33, CD15, CD14, CD13, cMPO	CD38, CD20, CD19, CD10, sur- λ , sur- κ , cy- μ , cCD79a	CD8, CD7, CD5, CD4, CD3, CD2, cCD3
2007	CD117, CD64, CD33, CD14, CD13, cMPO	CD20, CD19, CD10, cCD22	CD7, CD5, cCD3
2006	CD117, CD64, CD33, CD14, CD13, cMPO	CD20, CD19, CD10, sur- λ , sur- κ , cy- μ , cCD22	CD8, CD7, CD5, CD4, CD2, cCD3

Abbreviations: cMPO, cytoplasmic myeloperoxidase; cCD22, cytoplasmic CD22; sur- λ , surface λ ; sur- κ , surface κ ; cy- μ , cytoplasmic IgM; cCD79a, cytoplasmic CD79a; cCD3, cytoplasmic CD3.

류의 임상적 유용성을 평가하였다.

방법 : 서울성모병원에서 European Group for Immunological Classification of Acute Leukemias (EGIL) 지침으로 진단된 22명의 MPAL 환자들을 2008 WHO 분류에 근거하여 재분류하였다.

결과 : 2008 WHO 분류에 의하면, MPAL 진단에 필요한 단 클론항체 수가 EGIL과 비교하여 26개에서 11개로 현저히 감소하였다. MPAL로 재분류된 환자는 22명 중 17명이었고 재분류된 환자는 각각 MPAL with t(9;22)(q34;q11.2); *BCR-ABL1* 환자 6명, MPAL with t(v;11q23); *MLL* rearranged 환자 1명, MPAL, B/Myeloid, not otherwise specified (NOS) 환자 7명, MPAL, T/Myeloid, NOS 환자 3명이었다. MPAL에서 제외된 환자는 5명이었고 각각 cMPO 음성 4명, CD19 음성 1명이었다. 1차 완전관해에 실패하거나 재발한 경우 예후가 불량하였다($P=0.0002$ and $P=0.009$). 그러나 Philadelphia 염색체 양성 여부와 환자 예후 간에 통계적 유의성은 없었다($P=0.082$). MPAL에서 제외된 재분류 AML 환자 1명이 연구기간 동안 생존하였고 cCD79a, CD20, CD38, cMPO, CD15 양성이었다.

결론 : 2008 WHO 분류에 의하면 MPAL 진단에 필요한 단 클론항체를 모두 포함하여 급성백혈병판넬을 구성할 수 있다. MPAL 진단 시 MPO 또는 CD19 양성 여부가 매우 중요하고 2개 이상의 림프구계열 항원을 표현하는 AML을 MPAL로 진단하는 것이 고려된다.

참고문헌

- Greaves MF, Chan LC, Furley AJ, Watt SM, Molgaard HV. Lineage promiscuity in hemopoietic differentiation and leukemia. *Blood* 1986;67:1-11.
- Smith LJ, Curtis JE, Messner HA, Senn JS, Furthmayr H, McCulloch EA. Lineage infidelity in acute leukemia. *Blood* 1983;61:1138-45.
- Bene MC, Castoldi G, Knapp W, Ludwig WD, Matutes E, Orfao A, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995;9:1783-6.
- The value of c-kit in the diagnosis of biphenotypic acute leukemia. EGIL (European Group for the Immunological Classification of Leukaemias). *Leukemia* 1998;12:2038.
- Matutes E, Morilla R, Farahat N, Carbonell F, Swansbury J, Dyer M, et al. Definition of acute biphenotypic leukemia. *Haematologica* 1997;82:64-6.
- Brunning RD, Matutes E, et al. Acute leukaemias of ambiguous lineage. In: Jaffe ES, Harris NL, et al. eds. WHO classification tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC, 2001:106-7.
- Borowitz MJ, Bene M-C, et al. Acute leukaemias of ambiguous lineage. In: Swerdlow SH, Campo E, et al. eds. WHO classification tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC, 2008: 150-1.
- Morice WG, Kurtin PJ, Hodnefield JM, Shanafelt TD, Hoyer JD, Remstein ED, et al. Predictive value of blood and bone marrow flow cytometry in B-cell lymphoma classification: comparative analysis of flow cytometry and tissue biopsy in 252 patients. *Mayo Clin Proc* 2008;83:776-85.
- Cheson BD, Bennett JM, Kopecky KJ, Buchner T, Willman CL, Estey EH, et al. Revised recommendations of the International Working Group for diagnosis, standardization of response criteria, treatment outcomes and reporting standards for therapeutic trials in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2003;21:4642-9.
- Carbonell F, Swansbury J, Min T, Matutes E, Farahat N, Buccheri V, et al. Cytogenetic findings in acute biphenotypic leukaemia. *Leukemia* 1996;10:1283-7.
- Killick S, Matutes E, Powles RL, Hamblin M, Swansbury J, Treleaven JG, et al. Outcome of biphenotypic acute leukemia. *Haematologica* 1999;84:699-706.
- Legrand O, Perrot JY, Simonin G, Baudard M, Cadiou M, Blanc C, et al. Adult biphenotypic acute leukaemia: an entity with poor prognosis which is related to unfavourable cytogenetics and P-glycoprotein over-expression. *Br J Haematol* 1998;100:147-55.
- Owaidah TM, Al Beihany A, Iqbal MA, Elkum N, Roberts GT. Cytogenetics, molecular and ultrastructural characteristics of biphenotypic acute leukemia identified by the EGIL scoring system. *Leukemia* 2006;20:620-6.
- Sulak LE, Clare CN, Morale BA, Hansen KL, Montiel MM. Biphenotypic acute leukemia in adults. *Am J Clin Pathol* 1990;94:54-8.
- Cross AH, Goorha RM, Nuss R, Behm FG, Murphy SB, Kalwinsky DK, et al. Acute myeloid leukemia with T-lymphoid features: a distinct biologic and clinical entity. *Blood* 1988;72:579-87.
- Shurtleff SA, Buijs A, Behm FG, Rubnitz JE, Raimondi SC, Hancock ML, et al. *TEL/AML1* fusion resulting from a cryptic t(12;21) is the most common genetic lesion in pediatric ALL and defines a subgroup of patients with an excellent prognosis. *Leukemia* 1995;9:1985-9.
- Liang DC, Chou TB, Chen JS, Shurtleff SA, Rubnitz JE, Downing JR,

- et al. High incidence of *TEL/AML1* fusion resulting from a cryptic t(12;21) in childhood B-lineage acute lymphoblastic leukemia in Taiwan. *Leukemia* 1996;10:991-3.
18. Mirro J, Kitchingman G, Williams D, Lauzon GJ, Lin CC, Callihan T, et al. Clinical and laboratory characteristics of acute leukemia with the 4;11 translocation. *Blood* 1986;67:689-97.
19. Lampert F, Harbott J, Ludwig WD, Bartram CR, Ritter J, Gerein V, et al. Acute leukemia with chromosome translocation (4;11): 7 new patients and analysis of 71 cases. *Blut* 1987;54:325-35.
20. Lee KH, Lee JH, Choi SJ, Seol M, Lee YS, Kim WK, et al. Clinical effect of imatinib added to intensive combination chemotherapy for newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2005;19:1509-16.
21. Lanza F, Latorraca A, Moretti S, Castagnari B, Ferrari L, Castoldi G. Comparative analysis of different permeabilization methods for the flow cytometry measurement of cytoplasmic myeloperoxidase and lysozyme in normal and leukemic cells. *Cytometry* 1997;30:134-44.
22. Trainor KJ, Brisco MJ, Wan JH, Neoh S, Grist S, Morley AA. Gene rearrangement in B- and T-lymphoproliferative disease detected by the polymerase chain reaction. *Blood* 1991;78:192-6.