



# 유세포분석을 이용한 세포질 경쇄 발현 확인으로 단클론성을 증명한 B세포 림프종 1예

## A Case of Mature B-cell Neoplasm with Light Chain Clonality Confirmed by Cytoplasmic Light Chain Expression Using Flow Cytometry

조은혜\* · 유인영\* · 류미라 · 신혜영 · 김선희 · 조 덕

Eun Hye Cho, M.D.\*, In Young Yoo, M.D.\*, Mi Ra Ryu, M.D., Hye Young Shin, M.T., Sun-Hee Kim, M.D., Duck Cho, M.D.

성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학과

Department of Laboratory Medicine and Genetics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University, School of Medicine, Seoul, Korea

Surface immunoglobulin light-chain restriction is evidence of clonality in mature B-cell neoplasms. An aberrant pattern of surface light-chain expression can also be considered evidence of clonality. However, because this result could occur due to nonspecific staining or failure to stain, careful interpretation is required for accurate diagnosis. According to a previous study, flow cytometric analysis of the cytoplasmic pattern of light-chain expression in mature B-cell neoplasms is a viable approach to confirming clonality. Herein, we report a case, in which clonality could not be proven by surface light-chain analysis, but was demonstrated by cytoplasmic light-chain analysis. The case was in a patient with B-cell lymphoma showing non-specific surface expression of light-chains. This case support consideration of flow cytometric analysis of cytoplasmic light-chain expression patterns when aberrant surface light chain expression is observed, to confirm clonality of mature B-cell neoplasms.

**Key Words:** Mature B-cell neoplasm, Flow cytometry, Cytoplasmic light chain stain

### 서 론

세포표면 면역글로불린의 kappa 또는 lambda 경쇄 제한은 성숙 B-세포종양의 단클론성의 증거이다. 따라서 유세포분석을 통한 세포표면 면역글로불린의 경쇄 제한을 확인하는 것은 B세포 림프종의 진단에 필수적이다. 드문 경우의 B세포 림프종에서는 세포표면 면역글로불린의 경쇄 제한이 아닌 kappa, lambda 이중 양성이 관찰되기도 하였으나, 이러한 이중 양성은 불충분한 세척 과정으

로 인해 비특이적인 염색에 의해서도 나타날 수 있다[1]. 이와 같은 이유로 B세포 림프종과 비특이적인 염색을 감별하기 위해서는 주의 깊은 해석이 필요하다. 반면에, 세포표면 면역글로불린의 발현이 전혀 없는 이중 음성의 만성림프구백혈병 증례들이 보고된 바도 있다. 이들 증례에서는 세포질 면역글로불린의 경쇄 제한이 발견되어 이들 분석에 대한 새로운 접근법을 제시하였다[2, 3].

기존 연구에 의하면, 형질세포질환에서의 단클론성을 확인하기 위해 사용되는 세포질 면역글로불린의 경쇄 발현 패턴의 유세포 분석이 B세포 림프종과 비특이적인 염색을 구분하는 데 도움이 되는 것으로 알려져 있지만 국내에서 이러한 보고가 드물다[4]. 저자들은 세포표면 면역글로불린의 경쇄 발현 대신 세포질 면역글로불린의 경쇄 발현 분석으로 B세포 림프종의 단클론성을 확인하는 데 도움을 받은 1예를 경험하였기에 이를 소개하고자 한다.

**Corresponding author:** Duck Cho, M.D., Ph.D.

<https://orcid.org/0000-0001-6861-3282>

Department of Laboratory Medicine and Genetics, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University, School of Medicine, 81 Irwon-ro, Gangnam-gu, Seoul 06351, Korea

Tel: +82-2-3410-2403, Fax: +82-2-3410-2719, E-mail: duck.cho@skku.edu

\*These two authors contributed equally to this work.

Received: April 10, 2018

Revision received: July 12, 2018

Accepted: July 12, 2018

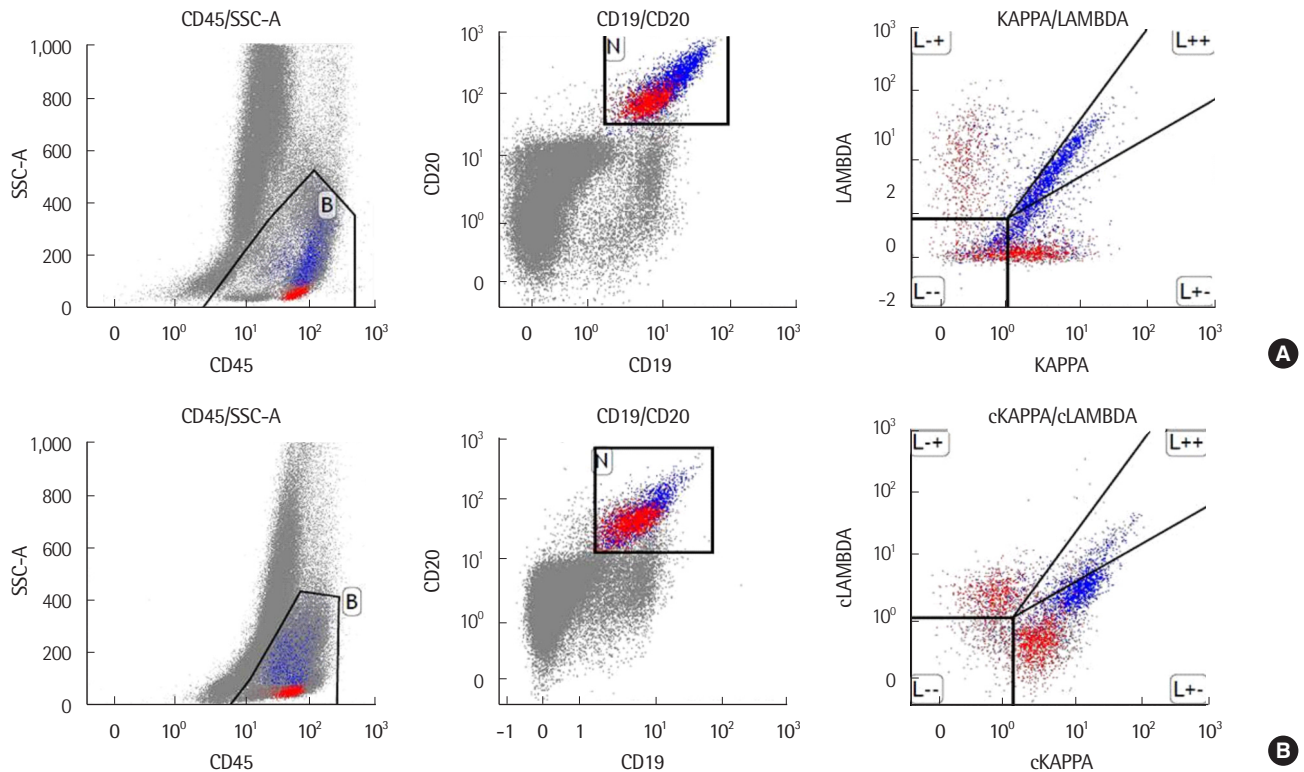
This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2019, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

### 증 례

48세 여성이 2주간 지속되는 열로 인하여 삼성서울병원 응급실로 내원하였다. 발열의 원인을 찾기 위하여 감염이나 류마티스 관련 검사들을 시행하였으나 모두 음성 결과를 보여, 불명열의 원인을 찾기 위해 추가적으로 골수검사를 시행하였다. 혈색소 수치는



**Fig. 1.** (A) Immunophenotyping by flow cytometry may indicate non-specific staining with surface kappa and lambda by the CD19+CD20+ gated B cells (blue) with moderate forward scatter. Normal B cell population (red) with low forward scatter showed polyclonal surface light chain expression. (B) The CD19+CD20+ gated B cells (blue) with moderate forward scatter showed bright cytoplasmic kappa restriction.

92 g/L로 경한 빈혈 소견을 보였으며, 백혈구는  $5.85 \times 10^9/L$ , 혈소판은  $279 \times 10^9/L$ 였다. 골수천자흡인도말검사서 악성 세포로 의심되는 비정형적인 세포들이 10~15% 관찰되었으며 증가된 조직구 및 혈구포식소견이 함께 관찰되었다. 골수생검검사서 악성 세포의 골수침습이 확인되었으며 면역조직화학염색에서 CD20 양성, CD3 음성 소견을 보여 B세포 림프종에 합당하였다. 골수로 시행한 염색체 검사상 *IGH* 유전자 부위인 14q32의 이상을 포함한 복합 핵형(46,X,del(X)(p11.2),t(1;18)(q44;q21.1),del(3)(p25),del(3)(q25),t(5;19)(p10;q10), t(6;14)(p23;q32),del(13)(q13)[1]/46,idem,dup(11)(q13q23)[4]/46,XX[13])을 보였다. 유세포분석에서는 CD19+CD20+ B세포가 3.15% 관찰되었으며 세포표면 면역글로불린의 kappa/lambda 비율은 1.52로 다클론성을 보였다(Fig. 1A). CD19+CD20+ B세포군 중 43.75%의 세포는 세포표면 면역글로불린의 비특이적 경쇄 발현 패턴을 보였다. 그런데, 이러한 소견이 비특이적인 염색인지 구분이 명확하지 않아 세포질 면역글로불린의 경쇄 발현을 유세포 분석으로 추가 분석하였다. 그 결과 세포표면 면역글로불린의 비특이적 경쇄 발현을 보였던 세포군이 세포질 면역글로불린의 경쇄 발현 분석에서는 kappa/lambda 비율이 12.50인 kappa 경쇄 제한을 보이는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1B). 환자는 함께 시행한 양

전자방출단층촬영에서 골수 및 양측 유방에 Fluoro-2-deoxy-D-glucose (FDG) 대사의 증가가 확인되었으며 추가로 시행한 유방 조직에 대한 면역조직화학염색상 Ki-67과 Bcl-6가 양성소견을 보여 최종적으로 광범위B형대세포림프종으로 확인되었다.

## 고 찰

유세포분석을 통한 면역글로불린의 경쇄 발현 분석은 B세포 림프종과 형질세포질환에서 단클론성을 확인하는 데 매우 중요하다. 이를 위해 B세포 림프종에서는 세포표면 면역글로불린의 kappa 또는 lambda 경쇄 제한을 확인하고, 형질세포질환에서는 세포질의 경쇄 제한을 확인한다[5, 6]. 그런데, B세포 림프종의 드문 경우에는 세포표면 면역글로불린의 경쇄 제한뿐만 아니라 kappa, lambda 이중 양성이 관찰되기도 한다[4, 7, 8]. Brozic 등[4]의 연구에 의하면, 면역글로불린 경쇄의 이중 양성을 보이는 20예 분석에서 75%가 실제로 B세포 림프종으로 확인되었다. 하지만 이중 양성은 세포표면에 존재하는 Fc 수용체에 의한 비특이적인 염색에 의해서도 나타날 수 있으므로 해석상 주의가 필요하다. 이러한 문제를 해결하기 위해서 Brozic 등[4]의 연구에서는 세포표면

면역글로불린 경쇄의 이중 양상을 보이는 10예에서 세포질 면역글로불린 경쇄의 유세포분석을 시행하였고, 그 결과 80%에서 kappa 또는 lambda의 경쇄 제한이 확인되었다.

세포질 면역글로불린의 경쇄 발현 분석은 세포표면 면역글로불린의 비특이적인 패턴을 보이는 예 이외에도 발현이 없는 B세포 림프종의 단클론성을 확인하는 데에도 도움이 된다. Pianezze 등[2]의 연구에 의하면 세포표면 면역글로불린의 발현이 없는 만성림프구백혈병 15예를 분석한 결과 그중 14예에서 세포질 면역글로불린의 경쇄 제한을 확인할 수 있었다. Lewis 등[3]의 연구에서도 만성림프구백혈병 30예의 세포표면 및 세포질 면역글로불린의 발현을 동시에 분석한 결과 그중 6예에서는 세포표면 면역글로불린의 경쇄 발현이 없이 세포질 면역글로불린의 경쇄 제한만 확인되었다. 이와 같이 세포표면의 면역글로불린의 발현이 음성으로 해석될 시에는 세포 외 기질에서 항체와 비특이적으로 반응을 일으킨 경우와 실제로 B세포 표면의 면역글로불린의 밀도가 낮아서 검출되지 않았을 가능성을 염두에 두어야 한다[2, 9]. 전자와 같이 세포 외 기질에 존재하는 면역글로불린 또는 죽은 세포에 의한 간섭으로 예상하지 못한 항원-항체 반응이 생겨 비특이적 반응이 발생할 수 있으므로 세척과정이 중요하다. 그뿐만 아니라, 세포 외 기질에 항체와 비특이적으로 반응하는 물질이 있는 경우에는 세척 과정 중에 차단제(예, Fc receptor blocking antibodies)를 추가하면 이와 같은 현상을 줄일 수 있다는 보고가 있다[1].

본 증례 및 과거 연구들에서 증명된 것처럼, B세포 림프종에서 유세포분석을 통한 세포질 면역글로불린의 경쇄 발현 분석은 세포표면 경쇄 발현 분석을 통한 kappa 또는 lambda 제한의 확인이 불가능한 경우 도움이 된다. 본 증례에서와 같이 B세포의 세포표면 면역글로불린 경쇄 분석에서 나타났던 비전형적인 패턴이 세포질 면역글로불린 경쇄 분석에서는 kappa 또는 lambda 제한으로 나타나는 것은 세포표면 Fc 수용체에 의한 비특이적인 반응으로 인해 가려져 있던 세포표면 면역글로불린 경쇄의 단클론성이 세포질 면역글로불린의 경쇄 분석에서 나타난 것으로 추측해 볼 수 있다. 따라서 추가적인 세척 및 차단제 사용을 통한 기술적인 측면을 우선적으로 시도했음에도 불구하고 비특이적인 반응이 나타나는 경우에는 세포질 면역글로불린의 경쇄 분석을 실시하는 것이 진단에 큰 도움이 될 수 있다고 생각한다. 아직은 이에 대한 연구가 많지 않지만 이러한 경험들을 통해 B세포 림프종에서 세포질 경쇄 발현 분석의 유용성을 확인할 수 있을 것으로 생각된다.

## 요 약

세포표면 면역글로불린의 kappa 또는 lambda 경쇄 제한은 성숙 B-세포종양의 단클론성의 증거이다. 하지만 세포표면 면역글로불

린 경쇄의 비전형적인 양상은 비특이적인 염색의 결과로 나타날 수도 있기 때문에 해석에 주의해야 한다. 이전의 한 연구에 의하면, 세포질 면역글로불린의 경쇄 발현 패턴의 유세포분석이 성숙B-세포종양의 단클론성을 증명하는 데 도움이 되는 것으로 알려져 있다. 이에 저자들은 세포표면 면역글로불린이 아닌 세포질 면역글로불린의 경쇄 발현 분석으로 성숙B-세포종양의 단클론성이 확인되었던 예를 경험하였기에 이를 소개하고자 한다. 증례는 B세포 림프종으로 세포표면 면역글로불린의 비특이적 경쇄 발현 패턴을 보였다. 본 증례에서와 같이 비전형적인 세포표면 면역글로불린 경쇄 발현 패턴을 보일 경우, 성숙B-세포종양의 단클론성을 확인하기 위해서 세포질 면역글로불린 경쇄 발현 분석을 고려해야 한다.

## 이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 어떠한 이해관계도 없음을 밝힙니다.

## REFERENCES

- Hulspas R, O'Gorman MR, Wood BL, Gratama JW, Sutherland DR. Considerations for the control of background fluorescence in clinical flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2009;76:355-64.
- Pianezze G, Gentilini I, Casini M, Fabris P, Coser P. Cytoplasmic immunoglobulins in chronic lymphocytic leukemia B cells. *Blood* 1987;69:1011-4.
- Lewis RE, Cruse JM, Pierce S, Lam J, Tadros Y. Surface and cytoplasmic immunoglobulin expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Exp Mol Pathol* 2005;79:146-50.
- Brozic A, Pohar Marinsek Z, Novakovic S, Kloboves Prevodnik V. Inconclusive flow cytometric surface light chain results; can cytoplasmic light chains, Bcl-2 expression and PCR clonality analysis improve accuracy of cytological diagnoses in B-cell lymphomas? *Diagn Pathol* 2015;10:191.
- Alley CL, Wang E, Dunphy CH, Gong JZ, Lu CM, Boswell EL, et al. Diagnostic and clinical considerations in concomitant bone marrow involvement by plasma cell myeloma and chronic lymphocytic leukemia/monoclonal B-cell lymphocytosis: a series of 15 cases and review of literature. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:503-17.
- Paiva B, Almeida J, Pérez-Andrés M, Mateo G, López A, Rasillo A, et al. Utility of flow cytometry immunophenotyping in multiple myeloma and other clonal plasma cell-related disorders. *Cytometry B Clin Cytom* 2010;78:239-52.
- Xu D. Dual surface immunoglobulin light-chain expression in B-cell

- lymphoproliferative disorders. Arch Pathol Lab Med 2006;130:853-6.
8. Fujiwara T, Ishizawa K, Kohata K, Yamamoto J, Yamada MF, Kameoka J, et al. Aggressive B-cell lymphoma with dual surface immunoglobulin light-chain expression. Intern Med 2007;46:1458-61.
9. Kaleem Z, Zehnbaue BA, White G, Zutter MM. Lack of expression of surface immunoglobulin light chains in B-cell non-Hodgkin lymphomas. Am J Clin Pathol 2000;113:399-405.