

The Histopathological Examination for Diagnosis of MALT Lymphoma in the Stomach

Tae Hee Lee¹, Sung Hee Hyun^{1,2} and In Sik Kim^{1,2}

¹Department of Senior Healthcare, BK21 Plus Program, Graduated School, Eulji University, Daejeon 301-768, Korea

²Department of Biomedical Laboratory Science, School of Medicine, Eulji University, Daejeon 301-768, Korea

Primary gastric lymphoma (PGL) is derived from mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) and it differs from nodal lymphoma in histologic features and biologic behavior. Recent studies have showed that *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection is closely related to the development of low grade gastric lymphoma, and eradication of the infection induces regression of the tumor. *H. pylori* infection is known to be important to the development of gastric MALT lymphoma. The aim of this study was to elucidate the histopathological behavior of PGL according to the concept of MALT and to compare the predictive value of tests frequently used for diagnosis of *H. pylori*. The histological features of gastric lymphoma arising from MALT are the replacement of glands by uniform dense infiltration of centrocyte-like cells in the lamina propria and lymphoepithelial lesion. *H. pylori*-associated histologic changes of neutrophilic infiltration, lymphoid follicle or aggregates formation and intestinal metaplasia, and *H. pylori* immunoreactivity were analyzed. Detection of *H. pylori* in chronic active gastritis and peptic ulcer suggests a possible role of *H. pylori* in the pathogenesis. Giemsa, Toluidine blue and Long H&E stains were used in *H. pylori* detection. Histopathological examination of gastric biopsy specimens revealed lymphoepithelial lesions pathognomonic of MALT lymphoma, and immunohistochemical staining for CD20 was diffusely positive. CD3 was positive in reactive T cells. PAX-5 was negative except the follicle. Bcl-2, cytokeratin, Ki-67, and c-myc were positive. The findings may indicate a predictable transition of low grade to high grade, and c-myc may be used as a valuable marker before molecular pathology diagnosis.

Keywords: MALT lymphoma, *H. pylori*, Lymphoepithelial lesion

Corresponding author: In Sik Kim
Department of Biomedical Laboratory Science,
School of Medicine, Eulji University,
143-5, Yeoungdu-dong, Jung-gu,
Daejeon 301-768, Korea
Tel: 82-42-259-1753
E-mail: orientree@eulji.ac.kr

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2014 The Korean Society for Clinical Laboratory Science. All rights reserved.

Received: August 12, 2014
Revised: September 18, 2014
Accepted: September 29, 2014

서론

점막연관림프조직(mucosa-associated lymphoid tissue; MALT) 림프종은 B 세포 림프종에 속하며 정의상 B 림프종은 B 림프구 분화 과정 중 어느 단계에 해당하는 세포의 클론 증식 종양이므로 형태학적 특성, 증식양상, 면역 표현형 및 유전학적 소견을 바탕으로 정상 분화의 어느 단계에 해당되는지를 규명하는 것이 B 림프종 진단 분류의 기본이다(Isaacson 등, 1983). 변연부 B 세포 림프종은 크게 점막 관련 림프조직의 변연부 B 세포 림프종, 비장의 변연부 림프종, 림프절 변연부 림프종으로 구분된다. 이 중 림프조직의 변연부 B 세포 림프종은 MALT 림프종 중 위에서 발생하는 악성 종양의 1%~7%를 차지하는 드문 질환이지만 전체 위장관 림프

종에서는 60%를 차지하며 발생 빈도는 점점 증가하고 있다(Chan 등, 2001). 점막연관림프조직 림프종은 장기간 다른 장기로 전이하지 않고 국소병변으로 남아있는 특징이 있어서 고등급으로 하지 않고 저등급으로 명명된다(Isaacson, 1994). 향후 치료 방향에 있어서 국소 병변의 치료가 집중되며, 위 림프종의 임상적, 병리학적 특징이 림프절보다는 점막연관림프조직의 구조 및 기능에 깊이 관련되어 있다. 원발성 위 림프종은 림프절 기원 림프종의 예후에 비하여 양호한데, 이는 원발성 위 림프종의 대부분이 점막연관림프조직에서 발생하기 때문이라는 보고도 있다(Isaacson, 1995). 점막연관림프조직 림프종의 발생은 만성 염증질환, *H. pylori* 위염, 쇼그렌 증후군과 하시모토 갑상선염과 같은 자가면역질환과 밀접히 연관되어 있으며 최근에는 점막연관림프조직 기원의 저등급 위 림프

종이 *H. pylori*와 연관되어 발생하며, 균을 치료하면 림프종이 치료된다는 보고에 의해 관심이 모아지고 있다(Wotherspoon 등, 1991). *H. pylori*는 다양한 상부 위장관 질환을 일으키는 것으로 알려져 있으며 *H. pylori*의 역할에 대한 연구는 급성 위염, 만성 활동성 위염, 만성 위축성 위염, 위암, 위궤양, 장상피화생, 십이지장궤양, 위 점막연관림프조직 림프종 및 비궤양성 소화불량증 등의 여러 가지 소화관 질환에 관련된 연구가 전세계적으로 진행되고 있다(Parsonnet 등, 1994). 우리나라에서는 성인 인구의 70-80%가 *H. pylori*에 감염 되었을 것이라고 예상하고 있으며, 이와 관련된 여러 가지 소화관 질환이 국민건강에 중요한 영향을 끼치고 있다(Jang 등, 2000). 그러나 실제 *H. pylori*에 감염된 다수의 사람들이 조직학적으로는 위 점막에 염증소견이 있지만, 이와 연관된 증상 없이 지내는 것으로 보아 *H. pylori* 감염 후 임상증상을 유발하는데, 균의 병원성뿐만 아니라 환경 및 외부 요인 등의 복합적인 인자가 관여할 것으로 추정된다. 최근에는 임상적으로 *H. pylori* 감염이 궤양과 점막연관림프조직에서도 중요한 원인으로 알려지면서, *H. pylori*균의 제거가 치료법의 하나로 인정되고 있다(Genta 등, 1993). 따라서 위 생검 조직 진단 시 *H. pylori*의 존재 여부, 치료 방향의 결정 및 치료의 효과를 평가하기 위해 이 균을 신속하고 정확하게 검출할 수 있는 방법이 필요하다(Ashton-Key 등, 1996). 위 생검 조직 진단 시 *H. pylori* 검출법으로는 일반적으로 Giemsa, Warthin-Starry 염색, 면역조직화학검사가 이용되고 있다(Loffeld 등, 1991).

본 연구는 위 내시경 검사에 의해 점막연관림프조직 림프종으로 진단된 예들의 파라핀 포매조직을 이용하여 일반적인 조직검사 방법인 Hematoxylin & Eosin 염색, 기존에 많이 사용되지 않는 Long Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색, 비교적 저렴하고 많이 상용화하는 Giemsa 염색, 비만세포 관찰시 많이 이용되는 Toluidine blue 염색을 통해 균을 관찰하고자 한다. 균 검출을 위한 염색방법들의 장단점을 확인하고, 면역조직화학염색을 통해 질환의 진행상태 및 추가적인 진단의 방향제시를 위함이다.

재료 및 방법

1. *H. pylori* 검출

위점막 조직을 생검 즉시 10% 중성 포르말린에 고정한 후 파라핀에 포매하고 4 μ m의 두께로 박절하여 연속절편을 얻어 H&E 염색, Giemsa 염색, Toluidine blue 염색, Long H&E 염색을 시행하였다. H&E 염색은 일반적인 방법으로 실시했으며, Giemsa 염색은 탈파라핀, 흡수, 수세 후 Giemsa solution에 담구어-넣어 수세 후 xylene을 처리 후 봉입하였다. Long H&E 염색은 탈파라핀, 흡수,

수세 과정을 거쳐 Mayer hematoxylin 후 수돗물 수세를 거쳐 eosin 염색 후 탈수, 투명, 봉입하였다. Mayer hematoxylin의 진행성 염색성질과 수세를 이용하여 염색결합의 차이를 관찰하였다. Toluidine blue 염색은 탈파라핀 과정을 거친 후 Toluidine blue 염색 용액에 담구어 수세 후 봉입하였다. 각각 염색별 양성 판정 기준은 H&E 염색에서는 위점막 상피세포의 표면이나 위점막의 점액층에서 나선형, 만곡형의 간균이 관찰될 때 양성으로 판정하였고, Giemsa, Toluidine blue 염색에서는 진한 청색으로 염색되는 간균의 발견 시 양성으로 하였다.

2. 면역조직화학염색

면역조직화학검사법을 기술하면 모든 예의 파라핀 블록을 4 μ m 두께로 하여 만들어 60°C에서 1시간 동안 두어 부착시킨 후 100% xylene으로 파라핀 제거 후 100%, 95%, 70% 알코올을 거쳐 증류수로 흡수시켰다. Microwave oven을 이용하여 10분간 처리한 후 30분간 실온에 두었다. 3% 과산화수소수로 15분간 처리하고 내인성 과산화효소 작용을 억제시킨 후 증류수로 수세하였다. 일차 항체인 CD3 (DAKO, Glostrup, Denmark)은 1:150 비율로, CD20 (M0755, DAKO)은 1:100 비율로, CD43 (MONOSAN, Uden, Netherlands)은 1:80 비율로, Bcl-2 (DAKO)은 1:300 비율로, cytokeratin (DAKO)은 1:200 비율로, Ki-67 (Zymed, South San Francisco, USA)은 1:300 비율로, p53 (DAKO)은 1:300 비율로, PAX-5 (DAKO)은 1:150비율로, c-myc (DAKO) 1:300비율로 각각 희석하여 실온에서 60분간 반응시켰고, TBS (Tris-buffered saline, pH7.6, DAKO)로 수세했다. 이차항체인 HRP를 처리하여 실온에서 10분간 반응 후 TBS로 수세하고 peroxidase-conjugated streptavidine (DAKO)를 처리하여 10분간 반응시킨 후 TBS로 수세하고 DAB (DAKO)으로 20분간 실온에서 발색시켰다. Mayer's hematoxylin으로 대조염색하고 봉입하였다. 특수염색을 통해 *H. pylori*를 관찰하려고 했으며 면역조직화학염색은 점막연관림프조직 림프종은 정상 위 조직에는 점막연관림프조직이 없지만, *H. pylori*에 의해 자극되어 염증반응으로부터 증식된 B-림프구의 변이에 의해 저등급 위 점막연관림프조직 림프종이 발생하므로 B-림프구 관련된 요소들과 림프종에 관련된 요소에 대해 시행하였다.

결 과

1. H&E stain에 의한 병변 관찰

H&E 염색에서 관찰되는 위점막의 조직변화 중 점막연관림프조직 림프종의 대표적인 병변 부위인 림프상피 병변(lymphoepithelial lesion; LEL)을 확인 할 수 있었고, 장상피화생도 확인 하였다(Fig.

1). 적색 구역표시는 림프상피 병변이며, 황색 구역표시는 샘상피 구역이다(Fig. 1).

2. 특수염색에 의한 *H. pylori* 검출

H. pylori 균을 관측하기 위해서, 특수염색으로 Long H&E, Giemsa, Toluidine blue 염색을 실시하였다. Long H&E, Toluidine blue, Giemsa 염색에서 만곡형의 간균형태를 관측할 수 있었다(Fig. 2). Giemsa 염색은 적색 구역 안에 가늘고 긴 보라색 계열로 염색 되었으며, Long H&E 염색은 적색 구역 안에 가늘고 긴 연한 보라색 계열로 염색 되었고, Toluidine blue 염색에는 적색 구역 안에 가늘고 긴 청색 계열로 염색이 된 것을 확인 할 수 있었다 (Fig. 2).

3. 면역조직화학염색을 통한 관찰결과

면역조직화학염색은 CD3, CD20, PAX-5, CD43, bcl-2, cytokeratin, ki-67, p53, c-myc에 대하여 시행하였다. CD3는 *H. pylori*균의 감염으로 인해 활성화 된 T 세포의 세포막과 세포질에

갈색으로 염색된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). CD20은 유입된 B 세포로 둘러싸인 림프소포(lymphoid follicle) 병변부위에 갈색으로 염색된 것을 확인하였다(Fig. 3). PAX-5는 병변부위에 일부 염색이 되었지만, 국한적으로 염색되었다(Fig. 3). CD43은 병변 부위에 일부 염색된 것을 확인하였지만, 비율이 낮고 염색성도 매우 낮았다(Fig. 4). Bcl-2는 종양세포의 세포질에 갈색으로 염색되었다 (Fig. 4). Cytokeratin은 상피세포들의 세포질에 염색되어 양성으로 볼 수 있다(Fig. 4). Ki-67은 핵에 염색 되었고 염색 비율은 평균적으로 10%로 나타났다(Fig. 5). p53은 병변 부위에 일부 약하게 핵에 염색되었지만, 염색비율도 낮고 병변부위에 염색이 약했다 (Fig. 5). C-myc의 경우 세포에 갈색으로 염색되었음을 확인하였다(Fig. 5).

고 찰

림프구의 크기 측면으로 보면 중간 크기 세포를 보이는 림프종은 투명하거나 양쪽성 세포질을 갖는 림프종에 속한다(Sandler,

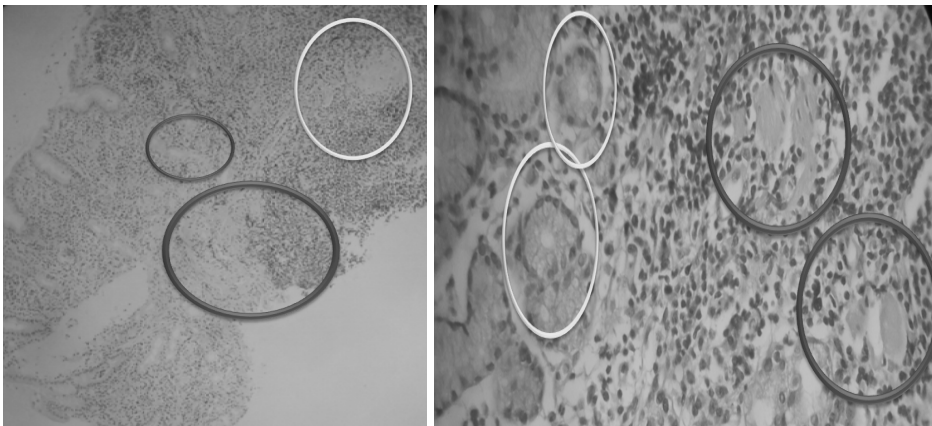


Fig. 1. Microscopic finding of lesion of the gastric mucosa. Low-grade gastric lymphoma of MALT shows a characteristic lymphoepithelial lesion within the epithelium causing glandular distortion (H&E stain, ×400).

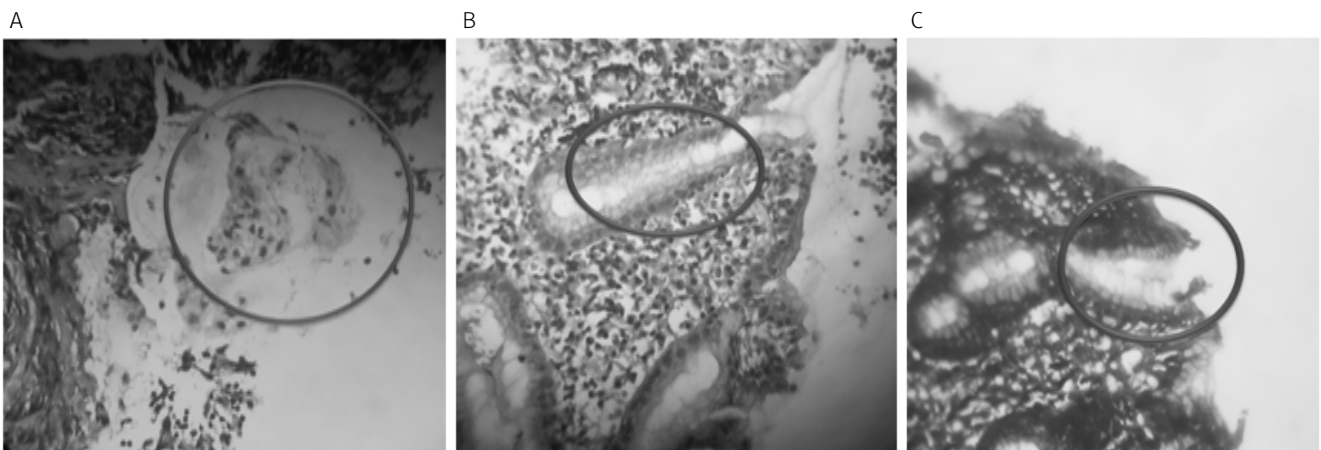


Fig. 2. Microscopic finding of *H. pylori*. (A) Giemsa stain (×400), (B) Long H&E stain ×400), and (C) Toluidine blue stain (×400).

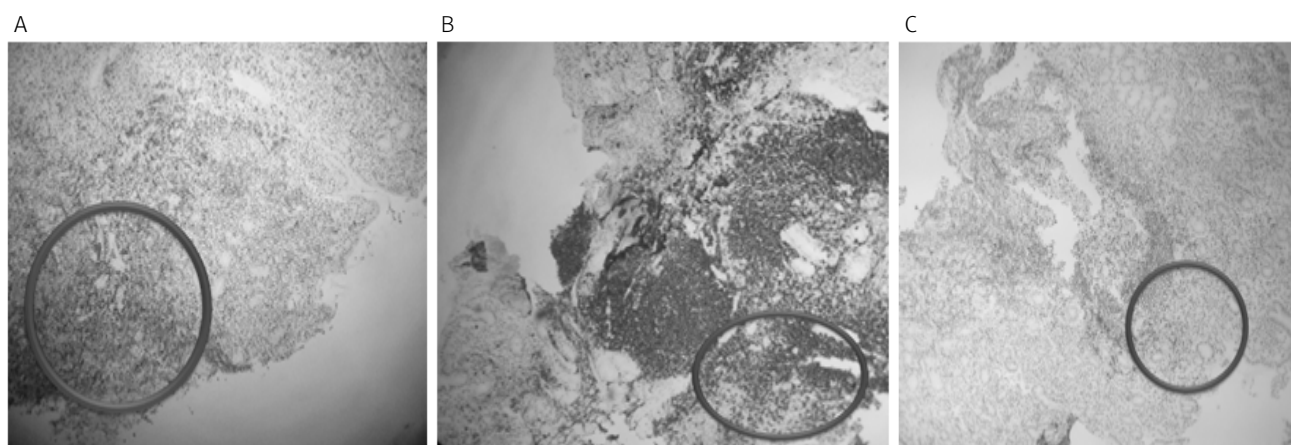


Fig. 3. Microscopic finding of CD3, CD20, and Pax-5. Immunohistochemical staining for CD3 (A), CD20, and PAX-5 (C) ($\times 100$).

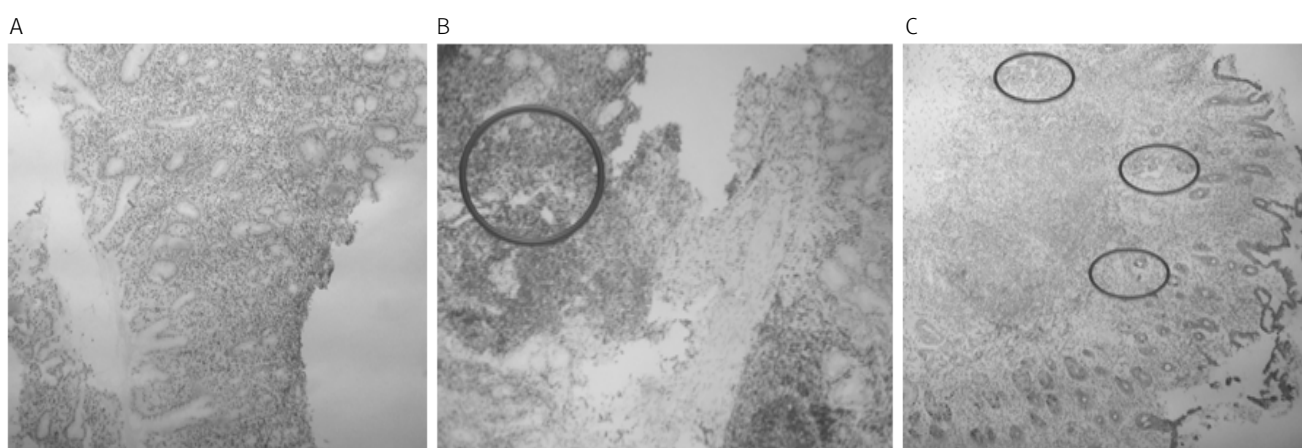


Fig. 4. Microscopic finding of CD43, bcl-2, and cytokeratin. Immunohistochemical staining method for CD43 (A), bcl-2 (B), and cytokeratin (C). ($\times 100$).

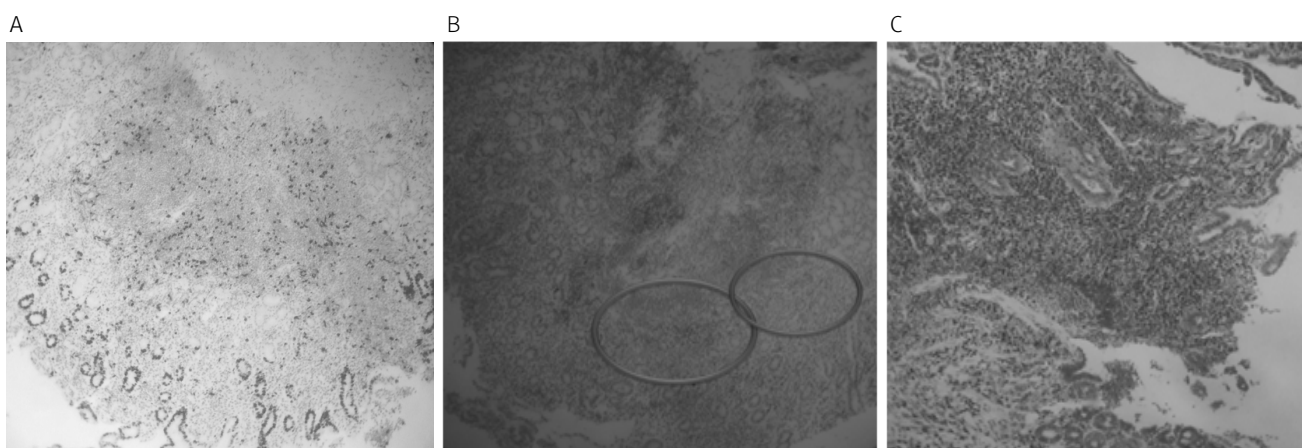


Fig. 5. Microscopic finding of Ki-67, p53, and c-myc. Immunohistochemical staining method for Ki-67 (A), p53 (B), and c-myc (C) ($\times 100$).

1984). 실제로 저등급 점막연관림프조직 림프종은 중앙세포가 단 일클론으로 형성되어 있고, 고등급 악성도의 림프종으로 진행이 가능하고 드물게는 골수로의 전이도 가능한 점으로 미루어 악성 림프 종임에 틀림없다고 인정되고 있다(Isaacson 등, 1983). 그런데, 점막연관림프조직은 정상인의 소장, 대장, 충수돌기 등에는 있으나 건강한 위장에는 원래 존재하지 않는다. 따라서 위 점막에서 점막 연관림프조직 림프종이 발생하기 위해서는 먼저 후천적으로 점막 연관림프조직이 생기게 하는 이상 상태가 먼저 있어야 한다(Ferreri 등, 2007). *H. pylori*에 감염되면 T세포와 B세포가 점막 고유층에 집합하여 염증반응을 증가시킨다. 이어서 B세포가 활성화되고 증식되면 B세포 소포를 형성하고 형질세포로 분화하여 항체를 생성하여 면역반응을 일으킨다(Hussell 등, 1993). 활성화되거나 혹은 균이 제거되지 않으면 염증반응이 자극되어 위점막에서는 mantle zone 커지고 marginal zone을 포함한 림프소포를 형성한다. 그리고 점막 기저부에 림프구 침윤과 림프상피성 병변(lympho-epithelial lesion, LEL)이 존재하게 된다(Isaacson 등, 1983). 점막연관림프조직 림프종의 원인에 있어 *H. pylori* 감염 또는 자가면역질환과 관련되어 있으며, 최근에는 점막연관림프조직 기원의 저등급 위 림프종이 *H. pylori*와 연관되어 발생한다고 한다. 그래서 *H. pylori* 균을 치료하면 MALT림프종이 치료된다는 보고에 의해 관심이 모아지고 있다. 하지만, *H. pylori* 양성인 저등급 위 림프종에서 *H. pylori* 박멸이 중요한 치료법의 하나임은 분명하지만 아직까지는 많은 의문점이 남아있다. 항생제 치료 후에 효과 판정의 시기, 보다 깊게 침윤된 병변의 경우에 *H. pylori* 박멸에 대한 반응의 변화, 항생제만으로 치료된 경우 지속정도, *H. pylori*가 재발할 경우 림프종의 재발여부가 있다. 이러한 여러 시각에 앞서 *H. pylori*균의 감염의 중요성은 높아지고 있어 *H. pylori*균의 발견은 중요시 여겨질 것이다(Scotiniotis 등, 2000).

*H. pylori*균의 검출은 위 내시경 생검조직을 이용한 방법이 가장 확실한 방법이기도 하나 *H. pylori*의 감염이 위벽에 균일하게 이루어져 있지 않기 때문에 위음성의 문제를 완전히 해결할 수가 없다. 통상의 H&E 염색에서는 점액 상피세포 표면의 균과 점액 등 분비물과의 감별이 쉽지 않으며 상피 표면과 나란히 위치한다든가 세포 간 접합부에 위치한 경우 인지하기가 어려우며 균수가 적은 경우 찾아내기 어려운 단점이 있다. *H. pylori*가 발견되고 초기병기의 저악성도 B-세포 점막연관림프조직 림프종은 *H. pylori* 박멸 요법 이후 소실되는 것으로 보고되고 있다. 따라서 림프종이 위 점막과 점막 하층에만 국한되어 있는 경우는 *H. pylori*를 치료하는 것이 현 시점에서 타당하다고 인정되고 있다. 점막연관림프조직 림프종은 다른 림프종과 차이점이 있는데, 중심세포유사세포(centrocyte-like cell)로 구성되어 있는 림프여포의 변연부(marginal zone)에서 발

생하며 림프상피 병변(LEL)이 나타난다. 그래서 H&E 염색을 통해 병변부위와 특성을 통해 중증도를 나누고 원인 및 치료시기 논란에 여겨지는 *H. pylori*균을 먼저 검사해야 한다. 중증도는 림프상피 병변 형성을 중요시 여기고 점막연관림프조직형성에 따른 조직변화 및 림프여포 형성, 중심세포유사세포 관찰에 따라 구분한다고 알려져 있으며, 림프상피 병변 형성 이후의 비종양성 병변과 감별이 어려운 경우 분자유전학적 검사를 통해 진단이 내려지고 있다(Isaccson 등, 1983). 실제 H&E 염색을 통해 림프상피병변을 확인할 수 있고 림프여포도 확인할 수 있었다(Fig. 1). 그리고 원인 및 치료시기 논란에 여겨지는 *H. pylori*의 조직학적 검사로는 많이 이용되는 Giemsa 염색을 시행하였다. 추가적으로 *H. pylori*균 검출에 잘 이용되지 않는 Toluidine blue와 Long H&E 염색을 하였는데 Warthin-Starry 은염색과 Genta 염색을 하지 않은 이유는 염색 방법의 어려움 및 시약이 많이 필요하여 신속하게 균을 검출하기에는 다소 시간이 걸린다. 그래서 기존에 알려져 있는 Giemsa 염색처럼 시간도 적고 시약도 간단한 염색방법을 통해 신속하게 검출하는 방법을 이용하고 있다. Alcian yellow-Toluidine blue(AT) 염색에서 *H. pylori*균이 Toluidine blue에 의해 염색되어 관찰된 것을 이용하여 Toluidine blue을 이용하면 균이 검출될 것이라 예측되어 Toluidine blue 염색을 실시하였다. 일반적으로 H&E 염색을 통해서도 간혹 *H. pylori* 약하게 검출되기도 하여 hematoxylin을 이용한 퇴행성 염색이 아닌 진행성 염색을 통해 시간도 줄이고 *H. pylori*균의 검출을 확인하려고 하였다. 실제 두 염색 모두 *H. pylori*균이 검출되었고 기존 Giemsa 염색에 비해 시간도 줄었다(Fig. 2). Toluidine blue 염색은 비만세포에 관해 많이 이용하고 있는데, 위 조직뿐만 아니라 피부 등에서도 점막연관림프조직 림프종의 진단에 도움이 될 수 있다고 생각한다. 하지만 장점만 발견된 것은 아니었다. Giemsa 염색만큼 *H. pylori*균이 잘 관측되지는 않았다. Giemsa 염색보다 진하게 염색되어 조직과 *H. pylori*균의 구별이 조금 어렵고 particle들도 생겨 관찰이 다소 어려운 점이 있다. 생검 이후 H&E 염색을 통해 중증도 및 *H. pylori*균의 관찰 유무를 통해 진단 및 치료 방법이 정해지고 이에 뒷받침할 면역조직화학 염색을 실시하였다. 3가지방법 모두 *H. pylori* 검출을 확인 할 수 있었으며 가장 육안적 관찰이 쉬운 방법은 Giemsa 염색방법이었으며, 시간이 제일 짧게 염색된 방법은 Long H&E 염색 방법이었다.

점막연관림프조직 림프종은 특이적인 표지자(marker)가 없다. 그리고 림프종 같은 경우는 악성종양처럼 특정세포를 보려는 것이 아니라 패턴을 보는 경우가 많기 때문에 더 다양한 면역표현형을 알기 위해서 기존에 하지 않은 염색들도 실시하였다. 점막연관림프조직 림프종은 기본적으로 CD20, CD79a는 양성으로 많이 알려져 있으며 CD43, CD11c은 50% 정도로 나타난다(Lim 등, 1977). 양성

인 경우에도 약하게 먹는 경우가 있어 결론에 무의미한 경우가 있다. CD5, CD10, CD23은 음성으로 나온다고 알려져 있다(이연수 등, 2011). *H. pylori* 관련 위점막 면역반응은 적응면역이 중점적으로 연구되고 있으며, 성인에서는 대부분 위점막에 interferon- γ (IFN- γ)를 분비하는 CD4 T세포가 주도적으로 침윤된다고 알려져 있다(Bamford 등, 1998). *H. pylori*에 감염으로 점막 고유층의 CD3, CD4, CD8 T세포와 CD20 B세포가 증가하여 T세포와 B세포가 모두 점막 면역반응에 중요하다고 보고 된 적이 있다(Hussein 등, 1996). CD3는 *H. pylori* 특이 T 세포가 단클론 B세포를 증식시켜 점막연관림프조직 림프종이 발생가능성이 있어 확인하였다. 점막 면역반응을 일으키는 T세포, 단클론 B세포를 증식시켜 점막연관림프조직 림프종의 발생여부에 관여를 확인하기 위해 CD3 염색을 실시 한 결과 양성반응을 나타내서, 반응을 일으키는 세포들이 남아 있는 것으로 추측된다(Fig. 3). 점막 관련 림프조직의 변연부 B세포 림프종은 비호치킨 림프종에 속하며 큰 틀로 생각하면 B세포 림프종이므로 B세포 관련된 lineage에서 CD19, CD20, CD23, PAX-5, MUM-1, Oct-2 등을 설정하였다. CD19는 Ig superfamily 측면에서는 양성이지만 아직 점막연관림프조직 림프종에서 보고된 적도 없고 B cell 단계에서 양성부분이 mature B cell보다는 전 단계에 많이 이용되어져 보류하였다. 그래서 CD19 대신 CD20을 실시하였다. CD20은 late-pre-B세포부터 발현을 하며 형질세포 단계에서는 일부 소실 한다. CD23은 B세포뿐만 아니라 대식세포, 소림프구성 림프종에 양성 나타난다. 그리고 CD23은 이미 음성이라고 알려져 있어 실시하지 않았다. B세포 marker이면서 잘 알려지지 않은 항체에 대해 생각해 본 결과 PAX-5와 MUM-1을 생각했다. MUM-1 같은 경우는 CD43처럼 양성비율이 50%이고 양성이라도 약하게 되는 경우가 많아 진단에 있어 도움이 되지 못하고 MUM-1은 Diffuse large B-cell lymphoma (미만성 큰 B-세포 림프종) 진단에 있어서 이용된다(이연수 등, 2011). PAX-5는 B-cell-specific activator protein(BSAP)으로 B세포분화와 발전에 있어 조절 역할을 하고 CD20만큼 전구단계에서의 양성 범위가 이루어져 있어 MUM-1처럼 MALT 림프종에서는 잘 알려져 있지 않지만 추가 진단에 있어 도움이 될 가능성이 있다고 생각하여 실시하였다. CD20은 병변 구역에서 양성반응을 통해 B세포 관련 림프종임을 추가 설명할 수 있을 것이다(Fig. 3). PAX-5는 병변 구역에 일부 염색된 것을 확인할 수 있지만 비율도 낮고 염색성도 낮기 때문에 양성이지만 양성판정 내리기가 어렵다고 생각한다(Fig. 3). 염색된 부위도 여포위주로 염색이 되어 양성판정이라고 보기 어렵다. PAX-5가 CD20만큼 B세포 전구단계에서 양성을 갖지만 점막연관림프조직 림프종은 성숙 B세포 림프구에 속하는 림프종으로 PAX-5는 성숙 B세포와 관련해서 더 연구가 필요할 것이다. PAX-5

이외에 B세포 marker로 많이 사용되는 CD79a를 실행하지 않은 이유는 이미 보고가 많이 되어 있어 배제하고 실험설정을 하였다. 일부에서는 CD43이 점막연관림프조직 림프종에서 양성 혹은 양성이라도 그 비율도 낮고 염색성도 낮기 때문에 음성으로 진단이 내려지는 경우도 많다. 그래서 어느 경우에 점막연관림프조직 림프종이 양성인 경우인지를 비교하기 위해 실시하였으나 염색결과 약하게 염색되었고, 양성판정은 어렵다고 생각한다(Fig. 4). Bcl-2는 악성종양(malignant lymphoma)에서 bcl-2와 같은 항세포자멸사 물질이 일반적으로 증가되어 있으며 이는 림프종의 비정상적 클론 증식을 위해 세포자멸사의 감소가 필요함을 보여준다(Reed 등, 1991). 그러므로 *H. pylori*와 연관된 위염과 점막연관림프조직 림프종 간의 세포자멸사 및 증식에 관한 비교가 필요하다 하겠다. 실제로 염색에서 세포질에 염색된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 정상적으로는 상피구역과 림프구가 구별되어 있지만 염증반응으로 인해 구역이 구별되어 있는 샘 같은 구역이 깨져 림프상피병변을 형성하게 된다. 이러한 병변 부위의 형태와 상피조직을 확인하기 위해 cytokeratin 염색을 실시한 결과 병변 부위가 세포질에 염색된 정상적인 상피조직에 비해 약하게 먹고 패턴이 불분명한 것을 확인하였다(Fig. 4). 세포증식을 평가하기 위해 Ki-67에 대한 면역조직화학염색을 시행하였다. Ki-67은 세포증식과 관련된 비히스톤(non-histone) 단백질로 세포증식의 표지자로 널리 이용되고 있다. 세포분열의 활동성을 측정할 수 있는 방법으로 Ki-67 이용된다. Ki-67 항원은 활발히 증식하고 있는 세포의 핵에서 나타나는 항원으로서 late G₁, S, G₂, M 기에서 나타나며, G₀ 휴지기 세포에서는 검출되지 않는 것이 특징이다. 따라서 면역조직화학염색으로 염색이 되는 세포는 현재 활발히 분열을 하고 있다는 것을 의미한다. Ki-67 labeling index는 면역조직화학염색 후 현미경을 통하여 종양세포 1000개를 세어 그 중 염색이 된 종양세포의 개수를 구한 후 100분율로 환산한 것이다. 이것은 세포분열 활성도의 지표로 사용된다. Ki-67은 예후를 예측할 수 있는 유용한 지표로도 사용될 가능성이 있다고 알려지고 있다. Ki-67결과 대략 10%정도로 나왔다. 만약 뇌조직이었다면 높은 비율이지만 림프종의 위조직으로는 평균치로 나온 것이다.

p53 유전자는 가장 잘 알려진 종양 억제 유전자로서, 세포자멸사와 세포주기의 조절에 관여함으로써 세포의 성장을 조절한다. 이것의 변이는 세포 증식 억제 기능을 상실하게 하여 여러 종류의 암을 유도한다고 알려져 있고, p53 변이로 인해 이의 기능이 상실되면 DNA 축적되고 종양발생의 위험이 증가한다. p53은 저등급과 고등급 구별에 있어 조직학적 패턴 이외에 중요하게 간주된다(Lane DP 등, 1990). 저등급에서 고등급로 전환될 때 조직학적 변화 이외에 p53물질이 발현이 과하게 되는 경우가 있어서, 병변지역

의 핵염색이 되지 않아 고등급으로 전환될 수는 있지만 지금 같은 경우에는 어렵다고 생각한다. C-myc은 암세포 형성의 직접적인 원인이기 보다는 발암 유전자 RAS 등 다른 유전자들과 함께 작용하여 세포를 변형 시키는 조력자의 역할을 하며 대개로 증식이 빠르고 악성 빈도가 높은 암에서 나타난다. 실제로 c-myc 염색을 통해 핵에 염색된 것을 알 수 있었다(Fig. 5). 일부는 과염색으로 인해 세포질까지 염색되었다. MALT림프종의 진단 marker로서 사용할 가능성을 보여 주었다.

내시경을 통해 점막연관림프조직 림프종이 의심되는 조직을 떼어내어 검체를 일반적인 H&E 염색을 통해 형태 및 병변부위를 확인하고 점막연관림프조직 림프종의 대표적인 형태인 림프상피 병변이 보이면 원인 및 정확한 진단과 치료방법을 파악하기 위해 Giesma 염색 이외에 Toluidine blue, Long H&E 염색을 시행하고 추가진단을 위해 B cell은 CD20, CD79a으로 확인하고, T 세포는 CD3로 방향을 설정하고, 진행상태는 bcl-2, cytokeratin, ki-67, p53을 이용하면 될 것이다. 이 연구를 통해 점막 관련 림프조직의 변연부 B세포 림프종에서 c-myc 발현이 증가함을 확인하였으며 분자병리학적 검사 이전에 c-myc을 통해 파악하는 방법도 하나의 방법으로 간주될 수 있다고 여겨진다.

Acknowledgements: None

Funding: None

Conflict of interest: None

References

1. Ashton-Key M, Diss TC, Isaacson PG. Detection of Helicobacter pylori in gastric biopsy and resection specimens. Department of Histopathology, University College London Medical School. *J Clin Pathol.* 1996, 49:107-111.
2. Bamford KB, Fan X, Crowe SE, Leary JF, Gourley WK, Luthra GK, Brooks EG, Graham DY, Reyes VE, Ernst PB. Lymphocytes in the human gastric mucosa during Helicobacter pylori have a T helper cell 1 phenotype. Department of Microbiology and Immunology, The Queen's University of Belfast, Northern Ireland. *Gastroenterology.* 1998, 114:482-492.
3. Chan JK. The new World Health Organization classification of lymphomas: the past, the present and the future. Department of Pathology, Queen Elizabeth Hospital, Hong Kong. *Hematol Oncol.* 2001, 19:129-150.
4. Ferreri AJ, Zucca E. Marginal-zone lymphoma. Medical Oncology Unit, Department of Oncology, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy. *Crit Rev Oncol Hemat.* 2007, 63:245-256.
5. Genta RM, Hamner HW, Graham DY. Gastric lymphoid follicles in Helicobacter pylori infection: frequency, distribution, and response to triple therapy. Department of Pathology, Baylor College of Medicine, Houston, TX. *Hum Pathol.* 1993, 24:577-583.
6. Hussell T, Isaacson PG, Crabtree JE, Spencer J. Helicobacter pylori-specific tumour-infiltrating T cells provide contact dependent help for the growth of malignant B cells in low-grade gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. Department of Histopathology, UCL Medical School, London, UK. *J Pathol.* 1996, 178:122-127.
7. Hussell T, Isaacson PG, Crabtree JE, Spencer J. The response of cells from low-grade B-cell gastric lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue to Helicobacter pylori. Department of Histopathology, UCL Medical School, London, UK. *Lancet.* 1993, 342:571-574.
8. Isaacson PG. Gastrointestinal lymphoma. Department of Histopathology, University College London Medical School, London, England. *Hum Pathol.* 1994, 25:1020-1029.
9. Isaacson P, Wright DH. Malignant lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. A distinctive type of B-cell lymphoma. Department of Histopathology, University College London Medical School, London, England. *Cancer.* 1983, 52:1410-1416.
10. Isaacson PG. Primary gastric lymphoma. Department of Histopathology, University College London Medical School, London, England. *Brit J Biomed Sci.* 1995, 52:291-296.
11. Jang TJ, Kim JR. Proliferation and apoptosis in gastric antral epithelial cells of patients infected with Helicobacter pylori. Department of Pathology, Dongguk University, College of Medicine, Kyungju, Kyungbuk, Korea. *J Gastroenterol.* 2000, 35:265-271.
12. Lane DP, Benchimol S. p53: oncogene or anti-oncogene? Imperial Cancer Research Fund, Clare Hall Laboratories, Herts, UK. *Gene Dev.* 1990, 4:1-8.
13. Lim FE, Hartman AS, Tan EG, Cady B, Meissner WA. Factors in the prognosis of gastric lymphoma. Department of Surgery, Lahey Clinic Foundation, and Laboratory of Pathology, New England Deaconess Hospital, Boston, Massachusetts. *Cancer.* 1977, 39:1715-1720.
14. Loffeld RJ, Stobberingh E, Flendrig JA, Arends JW. Helicobacter pylori in gastric biopsy specimens. Comparison of culture, modified giemsa stain, and immunohistochemistry. A retrospective study. Department of Internal Medicine, University Hospital Maastricht, The Netherlands. *J Pathol.* 1991, 165:69-73.
15. Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, Gelb AB, Warnke RA, Jellum E, Orentreich N, Vogelman JH, Friedman GD. Helicobacter pylori infection and gastric lymphoma. Department of Medicine, Stanford University School of Medicine, Calif. *Brit Med Bull.* 1994, 330:1267-1271.
16. Reed JC, Meister L, Tanaka S, Cuddy M, Yum S, Geyer C, Pleasure D. Differential expression of bcl2 protooncogene in neuroblastoma and other human tumor cell lines of neural origin. Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia. *Cancer Res.* 1991, 51:6529-6538.
17. Sandler RS. Has primary gastric lymphoma become more common? Department of Medicine and Center for Gastrointestinal Biology and Disease, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, USA. *J Gastroenterol.* 1984, 6:101-107.
18. Scotinotis IA, Rokkas T, Furth EE, Rigas B, Shiff SJ. Altered gastric epithelial cell kinetics in Helicobacter pylori-associated intestinal metaplasia: implications for gastric carcinogenesis.

Department of Medicine, University of Pennsylvania School of Medicine, Philadelphia, PA, USA. *Int J Cancer*: 2000, 85:192-200.

19. Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR, Isaacson PG. Helicobacter pylori-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. Department of Histopathology, University College and Middlesex School of Medicine, London, UK. *Lancet*. 1991, 338:1175-1176.
20. Lee YS, Jung ES. Current principles and clinical practice of pathology. Dept. of Pathology. College of Medicine. Catholic University of Korea. 2011.