

GREEN VET NEWSLETTER

14
SEPTEMBER




GREEN VET
Diagnostics and Healthcare



ABOUT CONTENTS

세포 검사

Lymphoma 의 진단과
(PARR)검사의 이해

신규검사

신규검사 UTI PCR 론칭

세포 검사

Lymphoma 의 진단과 PCR for antigen rearrangements(PARR)검사의 이해

림포마(Lymphoma)는 면역 세포 중 하나인 림프구(Lymphocytes)가 비정상적으로 증식하는 악성 종양입니다. 사람과 반려 동물 모두에서 비교적 흔하게 발생하며, 발생률(Incidence)은 개에서는 0.1%(개에서 발생하는 전체 종양 중 7-24%), 고양이에서는 0.1-0.2% 정도로 보고되어 있습니다 (고양이에서 발생하는 전체 종양 중 약 30%). 림포마는 림프절(체표, 복강, 흉강 등)이나 비장, 흉선과 같은 림프 계통의 조직(Lymphoid tissue)에서 기시하기도 하지만 위장관계(Alimentary) 또는 비장, 구강의 점막에서 기시하는 경우도 있고, 간이나 신장, 안구, 중추신경계, 피부에서도 발생합니다. 원발 종양의 위치나 종양의 분포 내지는 파급 정도에 따라 다양한 임상 증상을 나타낼 수 있으며, 종양 세포의 면역표현형(B 림프구 또는 T 림프구 유래)이나 분화 정도, 종양의 조직학적 아형(Subtype)에 따라 다양한 경과와 예후를 나타낼 수 있습니다. 적절한 치료적 접근이 없다면, 종양이 진행되면서 전신적인 증상(무기력, 쇠약, 발열, 식욕 감퇴 내지는 절제, 탈수, 호흡 곤란 등)을 나타내면서 결국 사망에 이를 수 있는 종양입니다.

개에서는 대개 중년령 이상에서 발생하며, Boxer, Rottweiler, Golden Retriever와 같은 호발 품종이 보고되어 있기는 하나, 성별이나 품종이 발병률에 큰 차이를 나타내는 원인으로 보이지는 않는다고도 알려져 있습니다. 고양이의 경우에는 발병 연령에 있어 2번의 호발 시기(Bimodal)를 나타내는데, 첫 번째는 2세, 두 번째는 10세 부근에서 발병률이 높습니다. 고양이의 림포마는 종종 Feline leukemia virus(FeLV)나 Feline immunodeficiency virus(FIV)의 감염과 연관되어 발병하기도 하는데, 어린 연령에서도 호발하는 것은 이러한 바이러스 감염과 연관된 발생 때문으로 여겨지고 있습니다.

< 림포마의 분류(Subtyping) 및 병기(Staging) >

림포마는 여러 가지 기준에 따라 분류될 수 있습니다.

먼저, 종양성 림프구가 잘 분화된 소형 림프구의 형태인지 미분화도가 높은 중대형 림프구(림프아세포, Lymphoblasts)의 형태인지에 따라 세포학적으로 Low-grade와 High-grade로 분류할 수 있습니다. 국소적이고 진행이 느린 저위험군 림포마(Indolent lymphoma)로 분류되는 유형들은 대개 소형 림프구의 증식을 특징으로 하는 low-grade 림포마인 경우가 많기는 하지만, low-grade 림포마 중에서도 일부 악성도가 높은 조직학적 유형이 있기 때문에 림프구의 분화도, 크기나 형태가 반드시 악성도를 대변한다고 볼 수는 없습니다.

면역표현형(Immunophenotype; B-cell 또는 T-cell 유래)에 따라서 분류하는 것 역시 일반적이며, 종양의 확진 뿐 아니라 조직 내 종양성 림프구와 비종양성 림프구의 분포를 명확하게 확인함으로써 조직학적 세분(Subtyping)에 도움이 됩니다. 조직학적 아형(Subtype)을 확인하는 것은 예후나 항암치료에 대한 반응성을 예측하는 데에도 도움이 될 수 있습니다. 림포마는 진행 속도나 예후/치료 반응성에 있어 다양한 경과를 나타낼 수 있는 만큼 오랜 기간 동안 수십 개의 조직학적 아형으로 분류하여 연구되기도 하였는데(표 1), 수 십년 동안 축적된 세분화된 림포마 연구 데이터들을 통해 현재 개별 환자의 종양의 진행이나 기대 수명을 보다 의미있게 예측할 수 있게 되었습니다. 개에서는 Diffuse large B-cell lymphoma (54%)의 발생이 가장 흔하고, 그 외 Peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified 나 Nodal T-zone lymphoma와 같은 아형의 림포마의 발생률 역시 높게 보고되어 있습니다. 고양이의 경우에도 Diffuse large B-cell lymphoma가 가장 흔하며 Intestinal T cell lymphoma 역시 발생 빈도가 높습니다.

B-cell neoplasms

Precursor B-cell neoplasms
 Lymphoblastic leukemia/lymphoma
 Mature (peripheral) B-cell neoplasms
 Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma
 Polymorphocytic leukemia
 Lymphoplasmacytic lymphoma
 Plasmablastic lymphoma
 Mantle cell lymphoma (MCL)
 Follicular lymphoma
 Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)^a
 Subtypes: T-cell-rich large B-cell; primary mediastinal (thymic)
 Angiocentric B-cell lymphoma (lymphomatoid granulomatous)
 Marginal zone lymphoma (MZL)^a
 Nodal, splenic, extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type (MALT)
 Burkitt's lymphoma/Burkitt's cell leukemia
 Provisional entity: high-grade B-cell lymphoma Burkitt's-like
 Plasma cell myeloma
 Plasmacytoma

T-cell and putative NK-cell neoplasms

Precursor T-cell neoplasm
 *Lymphoblastic lymphoma (LBL)/leukemia
 Mature (peripheral) T-cell and NK-cell neoplasms
 Chronic lymphocytic leukemia (CLL)/small cell lymphoma (SLL)
 Polymorphocytic leukemia
 Large granular lymphocytic (LGL) leukemia/lymphoma
 T-zone lymphoma (TZL), nodal^a
 Intestinal T-cell lymphoma (enteropathy associated)
 Hepatosplenic γδ T-cell lymphoma
 Mycosis fungoides/Sézary syndrome
 Intravascular lymphoma (angiocentric)
 Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma
 Angioimmunoblastic T-cell lymphoma
 Aggressive natural killer (NK)-cell leukemia/lymphoma
 Adult T-cell lymphoma/leukemia
 Anaplastic large cell lymphoma; cutaneous and systemic
 Peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified (PTCL-NOS)^{a,b}

<표 1> Summary of the Revised European-American Lymphoma (REAL) classification of lymphoid neoplasms adopted by the World Health Organization as applied for use in animals (Tumors in Domestic Animals 5th edit)

또한, 림포마는 신체 내 파급 범위에 따라 5단계의 병기(Stage)로 나눌 수 있습니다. Stage I(1기)는 단 한 개의 림프절/또는 부위에 발생한 경우를 일컫습니다. Stage II(2기)는 국소적으로 2-3개 정도의 림프절에 발생한 경우, Stage III(3기)는 전신적으로 발생했지만 통증은 동반하지 않은 림프 조직의 종대를 나타내는 경우를 뜻합니다. 전신 림프절과 함께 비장이나 간과 같은 실질 장기에 파급된 경우는 Stage IV(4기), 골수를 침습하거나 순환 혈액 내에 종양 세포가 관찰되는 경우는 Stage V(5기)로 분류합니다. 그 외 전신 증상이 없는 경우를 Substage a, 발열이나 10% 이상의 체중 감소, 고칼슘혈증과 같은 증상이 나타나는 경우를 Substage b로 표현하기도 합니다.

< 림포마의 진단 >

림포마는 빠른 진단과 적절한 치료적 접근이 무엇보다 중요한 질환입니다. 림포마의 진단에는 여러 가지 검사가 필요한데, 먼저 임상적인 검사가 수행되어야 합니다. 임상적인 검사에는 발생 위치에 따라 발현할 수 있는 환자의 임상 증상의 확인과 혈액 검사, 생화학적인 검사가 포함됩니다. 림프절이나 비장, 흉선과 같은 림프 계통의 조직(Lymphoid tissue)에서 기시하는 림포마는 초기(Substage b)의 경우 특별한 임상 증상 없이 단일 또는 다발성의 체표 림프절의 종대가 관찰되고, 진단 영상에서 비장이나 흉/복강 내 림프절, 흉선의 종대 소견이 확인될 수 있습니다. 비장이나 소화기계의 점막, 피부에서 기시하는 경우 증식된 림프구에 의해 경계가 명확하지 않은 조직의 비후가 관찰되는데 육안적으로는 염증과 구분이 어려운 경우가 많고 종양 내부와 주변으로 염증이 동반되는 경우도 많아 콧물이나 설사, 구토, 피부염과 같은 증상을 나타내기도 합니다.

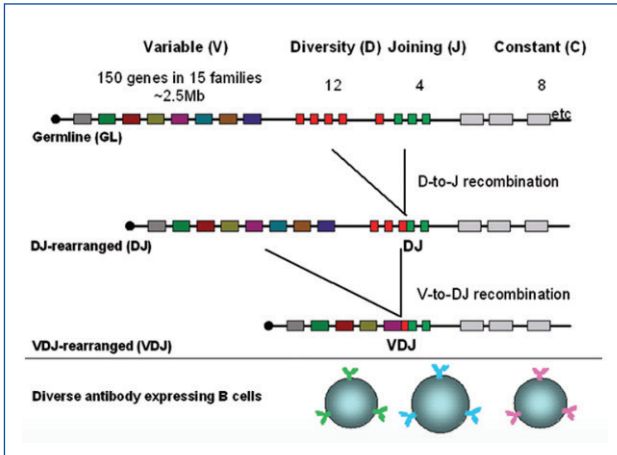
림포마 환자들의 혈액 검사 상에서는 넓은 범위의 비특이적인 이상이 나타날 수 있습니다. 비재생성 빈혈, 신장이 연관되는 경우(Renal lymphoma) 순환 혈액 내 적혈구 수의 증가와 같은 특이 소견이 확인되기도 합니다. 순환 혈액 내 백혈구 수는 정상 범주로 확인되는 경우가 많지만 백혈구 증가증 또는 감소증이 관찰되는 경우도 있습니다. 전신적으로 진행되는 Stage V 림포마 환자는 순환 혈액 내 미분화 림프아세포가 확인되기도 합니다.

임상 검사에서 림포마가 의심되는 경우 종양 의심 부위의 세포 흡인(Fine needle aspiration; FNA)을 통한 세포 검사를 우선 진행할 수 있으며, 세포 검사는 최소 침습적이고 빠르게 진행할 수 있는 유용한 검사법입니다. 중대형 림프아세포의 증식으로 형성된 High-grade의 림포마 환자의 경우 세포 검사(Cytology)만으로 대체로 명확한 진단이 가능합니다. 그러나 소형 림프구의 증식에 의한 Low-grade의 림포마나 병소에 심한 염증이 동반된 경우 세포 검사에서 림포마가 아닐 가능성(림프절의 반응성 종대 또는 림프선염)이 우선 고려되는 소견으로 진단될 가능성이 있습니다. 또한, 중대형 림프구와 소형 림프구가 혼재된 특정 아형(Subtype)의 림포마도 세포 검사로는 진단이 어렵습니다.

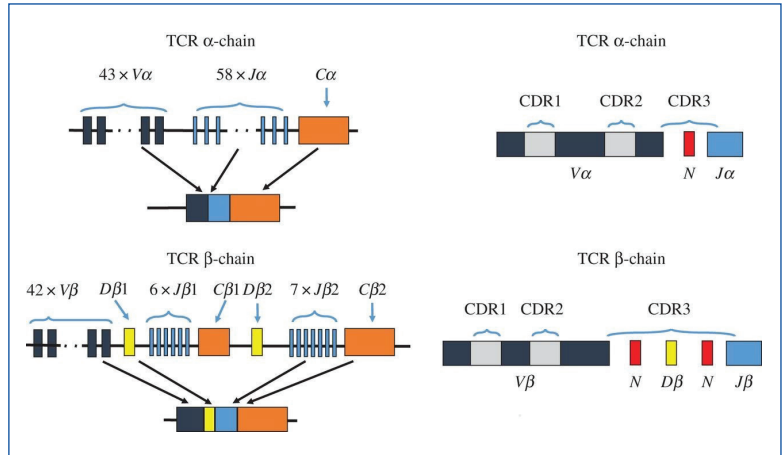
이러한 이유로 임상/영상 검사에서 림포마가 강력히 의심되었으나, 세포 검사로 림포마 진단이 되지 못한 경우, 고전적으로는 조직병리검사를 통해 림포마 여부를 최종 확인되기도 합니다. 조직에서는 증식한 림프구의 분포를 확인하여 림프 소포 구조, 중대형 림프구와 소형 림프구의 분포의 양상, 유사분열지수, 염증이나 괴사소 형성 여부, 주변 혈관이나 림프관과의 상관 관계 등을 복합적으로 파악하여 평가하기 때문에 보다 정확한 진단이 가능하기 때문입니다. 그러나, 최근에는 림포마의 진단을 위해 분자생물학적인 보조 검사 또한 널리 수행되고 있습니다(PCR for antigen receptor rearrangements; PARR).

< PARR 검사의 개요 >

PARR 검사는 2003년 콜로라도 주립대학 Avery 박사 연구팀에 의해 처음 고안되었습니다. T 림프구와 B 림프구는 성숙과정에서 다양한 항원에 반응할 수 있도록 항원 수용체 유전자(Antigen receptor gene)의 체세포 재조합(Somatic recombination)이 발생하는데(그림 1, 2), 이를 V(D)J recombination이라고 합니다; V: variable region, D: diversity segment, J: joining segment. 이러한 유전자 재조합으로 인해 한 개체(환자) 내에서도 T 림프구와 B 림프구는 가변적인 구간(Variable region; immunoglobulin light chain, heavy chain, TCR- γ 등)의 단백질 구조를 가질 수 있고, 이 구조를 코딩하는 유전자 염기 서열의 배열과 조합 역시 다양하게 포함하는 특성을 가지게 됩니다. 이 Variable region을 코딩하는 유전자를 여러 Primer set를 이용하여 증폭(PCR)시키면, 정상적으로는 다양한 사이즈의 염기 서열이 증폭된 Multiple한 Band 형태의 PCR 결과물을 확인할 수 있습니다.



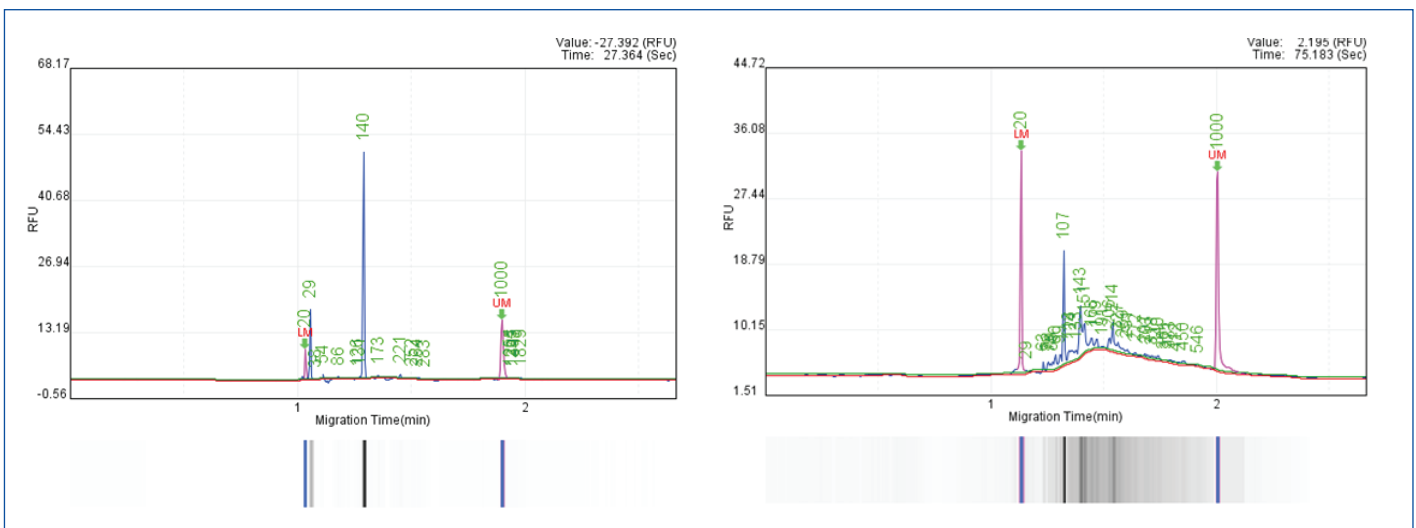
<그림 1> B cell, V(D)J recombination

<https://www.babraham.ac.uk/our-research/immunology/anne-corcoran>


<그림 2> T-cell receptor gene rearrangement. Variable (V), joining (J) and constant regions

<https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0291>

그러나 림프모나 백혈병, 골수종과 같은 종양 환자의 샘플에서는 결과가 다르게 나타납니다. 종양은 단일 세포 유래의 제어되지 않는 증식을 의미하기 때문에, Variable region과 이를 코딩하는 유전자 염기 서열의 배열과 조합이 동일한 세포들이 증식하여, 압도적으로 우세하게 존재합니다. 따라서 림프구 유래의 종양 환자의 세포에서 추출한 DNA로 PARR 검사를 진행하면, 단일 사이즈의 Band(내지는 분석 시스템에서 단일 peak)가 관찰됩니다(그림 3). 또한 단일 Band 또는 Peak로 관찰되는 결과가 Immunoglobulin light chain이나 Heavy chain을 표적으로 하는 Primer에 대한 결과인지, TCR-γ를 표적으로 하는 Primer에 대한 것인지를 확인하여 단일클론 팽창(Monoclonal expansion)을 나타내는 세포가 B 림프구 유래인지, T 림프구 유래인지도 알 수 있습니다.



<그림 3> PARR 결과의 예시. 림포마 환자의 샘플; 림프구의 Variable region을 Target하는 Primer를 이용한 PCR 검사에서 단일 Band와 Peak로 확인 (좌).

비림포마 환자의 샘플; 여러 개의 Band와 Peaks로 확인 (우).

이러한 원리로 개발된 PARR 검사는 무수 메탄올로 고정되고 염색된 세포 검사용으로 제작된 슬라이드 위에서 DNA를 추출하여 바로 진행할 수 있기 때문에, 세포 검사 이후 추가 외과적 시술 없이도 바로 진행할 수 있다는 장점이 있습니다.

또한, 항체를 이용하는 면역조직화학염색법(Immunohistochemistry)에 비해 종양의 면역표현형(Immunophenotype)까지 비교적 저렴한 비용으로 확인할 수 있습니다.

< PARR 검사의 한계 >

그러나 PARR 검사는 림프마의 확진을 위한 가장 효과적인 검사는 아니며, 현재 가장 상위 검사로 활용될 수도 없습니다. 여러 이유가 있지만 가장 큰 이유는 위음성과 위양성의 확률 때문입니다.

PARR의 위음성과 위양성은 다음과 같은 원인에 의해 발생할 수 있습니다.

▶ 위음성: 림프마임에도 다클론성(Polyclonality)으로 확인되는 경우

- (1) 일부 B cell 림프마의 경우 체세포 초돌연변이(Somatic hypermutation, 정상적인 면역반응으로 B cell의 항원친화력이 증대되는 과정)에 의해 종양 세포의 Variable region이 단클론성(Monoclonality)으로 확인되지 않고 다클론성 또는 올리고클론성으로 확인될 수 있습니다.
- (2) 가변적인 구간(Variable region; Immunoglobulin light chain, Heavy chain, TCR-γ)을 증폭하는 프라이머의 작용 범위가 불충분한 경우에도 적합한 PCR 반응이 일어나지 않아 위음성 결과가 도출될 수 있습니다: 대부분의 환자에서 Variable region을 검출할 수 있도록 고안된 프라이머를 개발 사용하고 있으나, 개나 고양이의 경우 사람과 달리 위낙 품종과 유전적 차이가 다양하기 때문에 개체에 따라서 진단 프라이머가 부적합한 경우가 간혹 있습니다.
- (3) 종양 내 심한 염증반응이 동반되거나 병변 내 비종양성 림프구를 다수 포함하는 특정 유형의 림프마의 경우에는 높은 비율의 비종양성 림프구의 존재로 인해 클론 반응(Clonal sign)이 가려지면서(Masking) 위음성 결과가 도출될 수 있습니다.
- (4) 그 외 Null cell type, NK-T cell type의 림프마와 같은 경우에도 PARR 검사에서는 위음성 결과가 도출될 수 있습니다.

▶ 위양성: 림프마가 아님에도 단클론성이 확인되는 경우

- (1) 특정 병원체 감염, 약물에 의한 반응, 자가면역질환과 같은 환자에서 주로 발생할 수 있습니다. Monocytic ehrlichiosis와 같은 감염증이 일어난 환자에서는 해당 질환에 대응하기 위한 림프구가 폭발적으로 증식하면서 종양이 아님에도 림프구의 단클론성 증식 조건이 확인될 수 있습니다.
- (2) DNA 양이 충분하지 않은 경우 프라이머 간의 비특이적 반응에 의해 단클론성 peak와 같은 양상의 결과가 나오기도 합니다.

PARR 검사의 정확도는 문헌마다 다르게 보고되어 있습니다. 특이도는 문헌을 종합할 때 90-95%로 큰 편차가 없어 [위양성의 확률이 높지 않은 검사법이다]라는 해석이 지배적입니다. 그러나 민감도의 경우에는 조금 다릅니다. 진단 업계에서 주로 차용하고 있는 논문(2019, J Vet Intern Med.의 33(3): 1392-1402)에서는 “시료의 종류(FNA, Pellets for flow cytometry, FFPE에서 추출한 DNA 등)에 따라 PARR의 민감도가 다르지만 개의 경우 대략 85-92%의 민감도와 특이도를 나타낸다”고 보고하였습니다. 그러나 수의종양학의 교과서로도 활용되고 있는 Tumors in Domestic Animals(2017)에서는 개에서 민감도가 75%, 고양이는 65%에 불과한 것으로 기술되어 있습니다. 이러한 개별 연구들에서의 민감도(위음성률)의 차이는 PARR 검사의 기술적인 부분의 개선과 발전에 따라 후속 연구에서 조금 높게 확인되었을 가능성도 있지만, 전반적으로는 PARR 검사 방법의 한계(위음성이 일어나는 다양한 원인) 자체에도 기인하여 연구 규모나 포함된 환자군에 따라 차이를 나타내었을 가능성이 더 높다고 보입니다. 실제 현재 개의 PARR 검사의 진단률을 90-95% 이상으로 안내하는 일부 전문 연구 집단과 검사 기관(e.g 미국 C주립대학, I사 등)들은 유세포분석(Flow cytometry) 검사를 함께 제공하고 있으며, 그 외 학술 보고(2013, Vet Intern Med. 27:1509-1516)에서도 림프마의 명확한 판단/진단을 위해서는 PARR 단독 검사보다는 유세포분석과 같은 다른 검사를 함께 해석하는 것이 도움이 된다고 이야기하고 있습니다.

또한, 과거와 현재 그린벳과 함께 PARR 검사를 제공하여 왔거나 현재 개발 중인 연구팀의 의견 역시 PARR 검사의 진단의 정확도를 90%이상으로 기대하기 위해서는 유세포분석 또는 면역염색(Immunocyto(-histo)chemistry)과 같은 검사가 함께 해석되어야 가능하다는 대체로 수렴하였습니다. 뿐만 아니라 기존의 다양한 문헌들(Tumors in Domestic Animals, Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology, 개와 고양이의 진단검사 의학 등)에서도, “PARR 검사에서 유전자 재배열 상 클론성 특징이 확인되지 않는다고 해서 림프계 종양을 배제할 수 없다”는 내용은 쉽게 확인이 가능합니다.

PARR 검사는 위음성과 위양성 가능성 외에도 진단적 가치에 있어 한계가 있습니다.

먼저 림포마가 진단되더라도 면역표현형만 확인할 수 있을 뿐, 종양성 림프구의 분포나 증식 양상은 확인되지 않기 때문에 전신적으로 진행되는 공격성이 강한 유형(Aggressive type)인지, 진행이 느린 저위험군 림포마(Indolent type)인지를 구별할 수 없습니다.

또한, 병기(Staging)의 판정 역시 PARR 검사로는 불가능합니다. *개의 림포마는 다심성(Multicentric; 동시 또는 시간의 차이를 두고 다발성으로 병소를 형성하는 특징)으로 진행되는 경향이 있으며, 대략 75%의 림포마 환자는 다심성 발병 특징을 나타낸다고 보고되어 있습니다. 효과적인 진료 방향 설정 및 질병 경과와 모니터링을 위해서는 종양의 파급 범위에 대한 파악이 필요하나 병기의 판정은 전신에 분포하는 림프 조직의 변화를 임상적으로 관찰하는 과정과 진단 영상(전신 CT 등)을 통한 정밀 검사가 필요합니다. 또한, 종양으로 의심되는 부위들에 대한 추가 세포 검사나 조직검사, 또는 말초 혈액 내 종양성 림프구의 유무를 확인하여 판정할 수 있으며, 단일 부위의 DNA 검사만을 통해서서는 불가능합니다.

< 림포마 진단의 Flowchart >

임상적으로 림포마가 의심되는 환자는 1차적으로는 병소 부위(주로 종대된 림프절 또는 비장)에서 세침흡인(FNA)을 통해 세포 샘플링을 하여 세포의 형태를 관찰합니다. 정상 내지는 반응성 종대가 일어난 림프절의 경우 흡인물은 소형 림프구와 중대형 림프구가 혼재된 양상으로, 대개 중대형 림프구 비율은 50% 이하로 낮게 관찰됩니다. 림프선염(Lymphadenitis)의 경우, 기본적으로 형질 세포(Plasma cells)의 비율이 증가하게 되며, 호산구, 호중구 또는 조직구가 증가하는 양상으로 관찰될 수 있습니다. 그러나 염증 세포의 증가 없이 림프구 위주로 관찰되지만 림프구가 거친 핵상, 뚜렷한 핵소체, 빈번한 유사분열상을 나타내거나 미분화(중대형) 림프구의 비율이 50%를 넘어가는 경우 High-grade의 림포마를 우선 고려할 수 있습니다. 또한, 소형 림프구가 우세한 경우에도 세포의 형태가 단일하고(Monomorphic) 압도적으로(>90%) 소형 림프구만 관찰되는 경우 low-grade 림포마를 우선 고려할 수 있습니다.

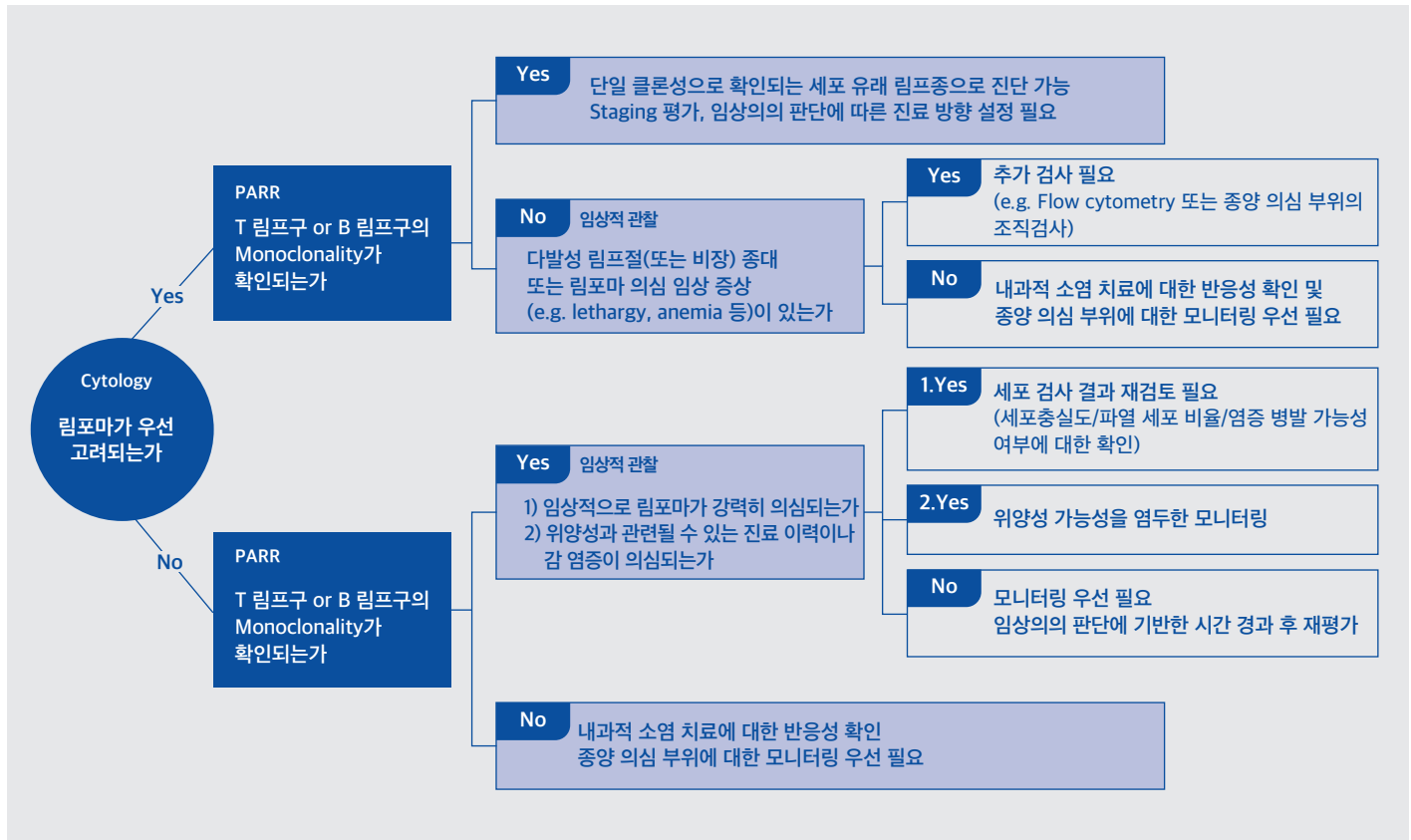
세포 검사를 진행한 슬라이드를 이용하여 PARR 검사를 추가로 진행하는 경우, 세포 검사 결과와 PARR 결과가 일치한다면 추가 검사없이 림포마의 진단 또는 배제가 가능합니다. 그러나 두 결과가 일치하지 않는 경우에는 PARR 위음성/위양성 가능성을 포함한 다각적 검토가 필요합니다(그림 4).

PARR은 음성이나 세포의 형태 평가에서 비교적 명확하게 림포마로 판단되는 경우라면, PARR 위음성의 가능성을 반드시 고려하여야 합니다. 임상적 관찰 결과를 종합하는 것 역시 진단에 큰 도움이 되며, 림포마가 강력히 의심되는 임상 증상(다발성 림프절 종대, 혈액 검사상 이상 소견, 원인을 알 수 없는 전신 무력감을 포함한 임상적 증상)을 나타내는 경우 유세포분석이나 조직검사와 같은 다른 유형의 검사를 통한 검토가 강력히 추천됩니다.

그러나 1) 림포마 여부를 판단하기에 세포의 비율이 애매하거나 2) 세침 또는 도말 과정에서 파열된 세포의 비율이 높아 형태적 평가가 제한적인 경우, 3) 염증 세포와 악성형 특징을 나타내는 림프구가 동시에 증가한 경우와 같이 세포 검사만으로 명확한 판단이 어려운 경우에는 PARR 검사에 보다 의존하여 판단할 수밖에 없습니다. PARR 검사는 위양성의 확률은 비교적 낮은(5-10%) 검사 방법이기 때문에 T 림프구나 B 림프구의 단클론성이 확인된다면 세포 검사 결과에 대한 재검토가 우선 필요합니다. PARR 검사를 위한 DNA 추출에는 최소 5만개의 림프구가 필요하므로 세포총실도가 너무 낮아 위양성 결과가 나올 수 있는 경우인지, 염증이 병발된 림포마가 고려되는 경우에 해당하지는 않는지 세포검사 판독자에게 재확인해 볼 수 있습니다.

또한, 파열된 세포로 인해 판독이 어려웠던 샘플(Non-diagnostic)이라면 임상 증상과 종합하여 림포마일 가능성을 보다 우선적으로 검토해 보실 수 있습니다. 세포 검사와 임상 증상이 모두 명확하지 않은 경우에는 소염 치료에 대한 반응을 살펴보면서 세포 또는 PARR의 재검사 여부를 결정하실 수 있습니다.

*고양이의 림포마는 다심성 발생이 개보다 드물다고 연구되어 있기도 합니다.



<그림 4> PARR 진단의 Flowchart의 제안

기본적으로 림포마의 진단은 임상적인 관찰 역시 매우 중요합니다. 대체로는 세포 검사와 PARR만으로도 진단/감별이 가능하지만, 세포 검사와 PARR 검사는 병변의 일부만 채취하여 진행하는 것이다 보니 임상적의 판단에 따라 약 20% 내외의 환자에서는 재샘플링과 재검사, 혹은 전체 병변의 조직 검사를 통한 확인까지 필요할 수 있다는 점을 미리 보호자에게 충분히 설명해두시는 것이 좋겠습니다.

< 맺음말 >

그린벳은 2021년 오픈 이후 세 개의 업체, 수의과대학 실험실과의 협약을 통해 PARR 검사를 제공하여 왔습니다. 지난 3년 간 세포검사 결과와 PARR 검사가 불일치하는 경우에 대한 문의는 지속적으로 발생하였으며, 자체적 조사(Retrospective study)에서 [세포 검사 또는 임상적 관찰에서 림포마가 강력하게 의심된 환자, 또는 조직 검사로 림포마가 확인된 환자 중 개의 경우 약 15-25%, 고양이의 경우 약 30%에서는 PARR 검사에서 림프구의 단클론성이 확인되지 않았으며, 이는 PARR 검사를 진행하는 기관에 따른 차이는 아닌 것으로 보인다]는 결론을 얻었습니다.

이는 기존 학술 상담 시 학술 논문들을 인용하여 안내하였던 위음성의 확률 5-15%보다 10%가량 높은 수치입니다.

다만, 1) 논문들은 임상적으로나 조직학적으로 림포마 여부가 명확히 확인 또는 배제된 환자를 선정하여 실험을 진행하므로 위음성률이 실제 임상에서 검사되는 것보다 낮게, 더 정확한 것처럼 과대평가되어 집계될 수 있다는 점, 2) 그린벳 내 검사 결과의 위음성률은 단일 기관이 아닌 어떤 기관과 협력하였던 시기에도 큰 차이 없이 관찰되었다는 점, 3) 교과서적으로도 림포마에 대한 민감도는 개와 고양이에서 75%와 65% 정도로만 기술되어 있는 점을 종합할 때 PARR 단독 검사 방법 자체의 한계로 판단하는 게 합리적이라는 결론을 얻을 수 있었습니다.

이번 뉴스레터를 통해 그린벳의 PARR 검사에 문제가 있다거나 PARR 검사의 진단 가치가 낮다는 이야기를 하려고 한 것은 아닙니다.

림포마는 다발성, 다심성 진행을 나타낼 수 있는 종양이며, 국소적(비강, 위장관계 등)으로 발생하는 경우에도 종양이 명확한 경계를 형성하지 않는 경우가 많기 때문에 수술적으로 완전히 제거하기가 어렵고 추가적인 항암제의 투여가 종양의 치료/관리를 위해 반드시 고려되어야 합니다. 수술 없이, 최소침습적으로, 비교적 적은 비용으로 빠르게 진단할 수 있는 PARR 검사는 분명 큰 장점을 가지고 있습니다. 그러나 PARR 단독 검사만으로 림포마 여부를 판단하거나 PARR 검사를 림포마의 가장 상위 검사로 간주한 진단 프로토콜은 일부 림포마 환자에서 매우 위험한 상황을 초래할 수 있습니다.

이미 본문에 언급된 것과 같이, PARR 위음성 결과에는 다양한 원인이 관여할 수 있지만, 세포 검사와 PARR 검사 모두에서 림포마로 진단(또는 의심)되지 못한 림포마 환자(조직검사에서 최종적으로 림포마로 확인)는 대개 아래와 같은 경우에 해당하였습니다.

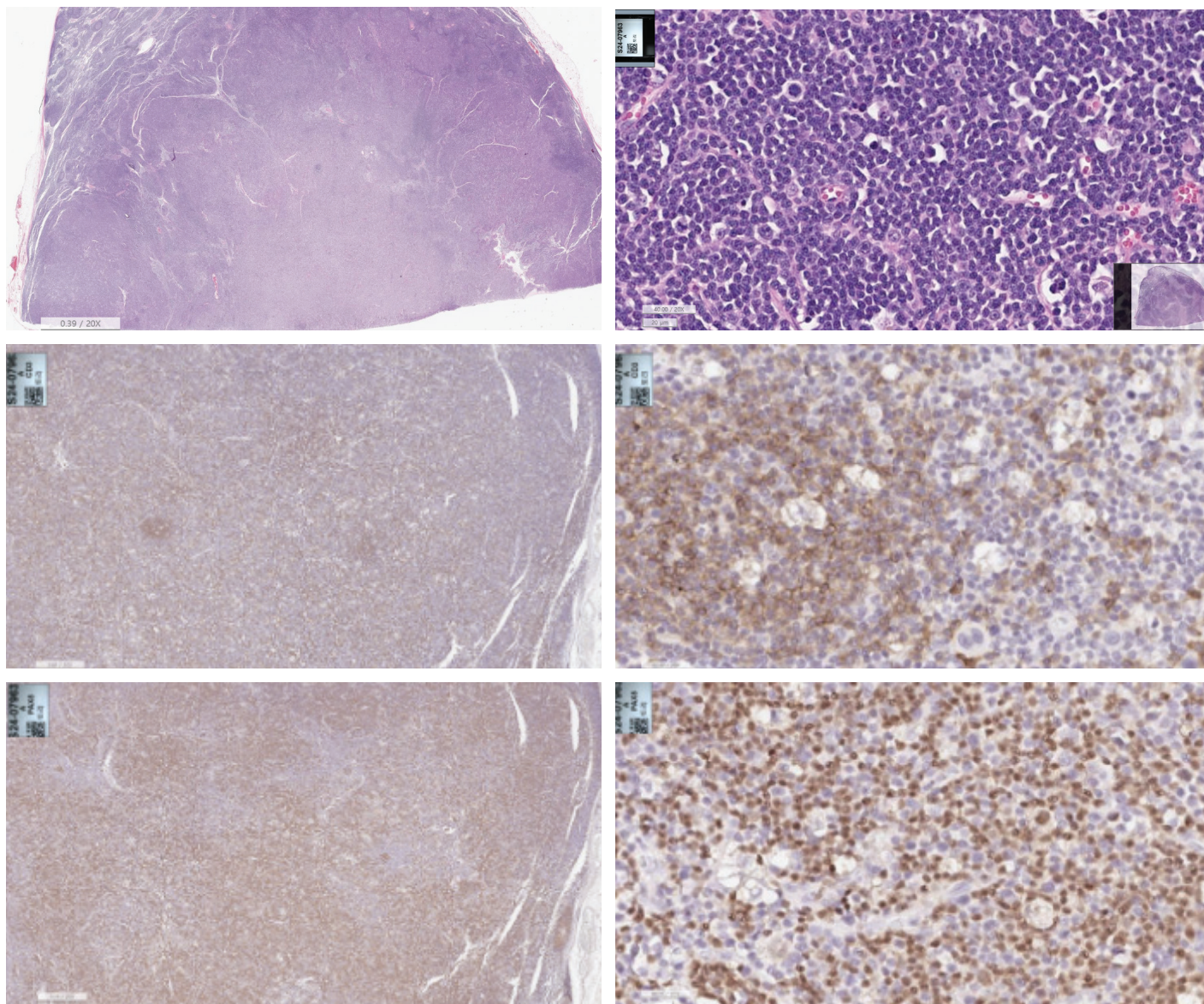
먼저, 종양(림포마)의 중심부에 심한 염증-괴사가 병발한 상태에서 염증부위가 주로 샘플링(세포의 흡인)된 경우를 들 수 있습니다.

대체로 1) 종대된 림프절의 크기가 매우 크고, 중심부에 농양성 변화가 동반된 증례이거나 2) 복강 내 림프절을 흡인한 경우 중에 세포 검사는 림프선염(Lymphadenitis)이 고려되고, PARR에서도 림프구의 단클론성이 확인되지 않는 경우들이 있었습니다. 이러한 문제를 최소화하기 위해서는 여러 번의 샘플링이 추천됩니다. 병변의 크기가 매우 큰 경우, 종괴의 단단한 부분이나 변연부를 샘플링한 슬라이드를 꼭 추가 제작하시는 것이 좋습니다. 복강 내 림프절의 경우, 초음파 영상 가이드 하에 샘플링하더라도 종종 병변의 주변에서 샘플링 되거나 진단에 적합한 퀄리티의 세포 샘플을 얻을 수 없다는 점을 참고하시어 충분한 시도를 하시는 것이 권장됩니다.

그 외 T cell rich B cell lymphoma와 같은 조직학적으로 매우 특이한 유형의 림포마 역시 세포와 PARR 모두에서 림포마로 의심되지 못한 증례가 있습니다(그림 5). T cell rich B cell lymphoma는 소형-중형의 비종양성 T 림프구 사이에 중형 내지는 중대형 B cell들의 종양성 증식이 확인되는 조직학적 아형의 림포마입니다. 조직학적으로는 림포마 진단이 가능하나, 세포 검사나 PARR 검사에서도 림포마로 의심되지 못할 수 있습니다. 이러한 유형의 위음성 경우는 샘플링이나 재검을 통해서도 진단이 어렵기 때문에 조직검사와 면역조직화학염색을 통해 진단해야 합니다.

PARR 검사는 림포마의 진단에 유용한 검사이지만, 반드시 환자의 임상 증상과 세포 검사 결과를 종합하여 활용하여야 합니다. PARR 검사는 높은 확률로 림포마의 진단에 도움이 되지만 세포 형태학적 평가와 PARR이 일치하지 않거나, 또는 임상 증상과 세포 검사, PARR 검사 결과가 일치하지 않는 경우에는 유세포분석이나 조직검사와 같은 상위 검사가 필요합니다.

앞으로도 PARR 검사 결과에 대한 해석이 어려운 경우에 있어서, 그린벳은 세포 검사의 재검토 의견을 포함한 전문 수의사의 다각적 학술적 상담을 제공하여 쉽게 진단하기 어려운 유형의 림포마 환자의 진단과 치료 방향 설정에 도움이 될 수 있도록 노력하겠습니다.



<그림 5> T-cell-rich large B-cell lymphoma(TCRLBCL), Feline: 소형-중형의 비종양성 T 림프구사이에 중형-대형의 B 림프구의 종양성 증식이 확인되는 유형

Reference

1. <https://vetmedbiosci.colostate.edu/chl/principles-of-testing/#::~text=We%20estimate%20we%20detect%2093,cases%20with%20the%20PARR%20assay.>
2. <https://www.babraham.ac.uk/our-research/immunology/anne-corcoran>
3. <https://www.msdivetmanual.com/circulatory-system/lymphoma-in-dogs/lymphoma-in-dogs>
4. DOI: 10.3390/ani13162667
5. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology (수의진단검사의학), OKVET, 한국수의진단검사의학교수협의회
6. Tumors in Domestic Animals (5th edit). Donald J. Meuten. Pp. 967.

신규검사

신규검사 UTI PCR 론칭

요로감염PCR

 PCR for Urinary Tract Pathogens

 그린벳 요로감염 PCR의
CHECK POINT!
**1. 신속한 검사**

배양을 이용한 진단법보다 신속하게
검사 결과를 확인할 수 있습니다.

**2. 정확한 검출**

Mycoplasmas, Corynebacterium
urealyticum, Leptospira spp. 등
배양 검사로는 검출이
어려운 병원체도 검출이 가능합니다.

**3. 높은 민감도**

미생물이 불활화되거나 핵산만
존재하는 경우에도 높은 민감도
(10 copies/ μ L)로 검출이 가능합니다.

요로감염 PCR에 포함된 병원체

병원체	Compact 8종	Comprehensive 19종
Escherichia coli	●	●
Klebsiella pneumoniae	●	●
Proteus mirabilis	●	●
Klebsiella aerogenes	●	●
Enterococcus faecalis	●	●
Enterococcus faecium	●	●
Staphylococcus pseudintermedius	●	●
Staphylococcus schleiferi	●	●
Pseudomonas aeruginosa		●
Streptococcus canis		●
Enterobacter cloacae complex		●
Corynebacterium urealyticum		●
Acinetobacter baumannii		●
Salmonella spp.		●
Pasteurella multocida		●
Mycoplasma canis		●
Ureaplasma urealyticum		●
Leptospira spp.		●
Candida albicans		●

*주의사항 - 적합검체 : 방광천자뇨 1~10mL / 채취용기 : Conical tube / 안정성 : 3~7일 / 보관 방법 : 냉장, TAT : 2일



요로감염 진단과 치료과정

Diagnosis and treatment process of urinary tract infection

