

## Linfoma anaplásico de células grandes ALK+ en niños. Análisis morfológico e inmunohistoquímico

Dra. Leticia Bornstein-Quevedo, Dr. FJ García-Vázquez, Dr. Eduardo López-Corella

### RESUMEN

**Antecedentes.** La clasificación actual de linfoma anaplásico de células grandes (LACG) y la correlación del inmunofenotipo T o B con la expresión de ALK (anaplastic lymphoma kinase) son motivo de controversia. Aunque los LACG representan el 15% de linfomas en niños, las características morfológicas e inmunohistoquímicas no están bien caracterizadas.

**Material y métodos.** Se evaluaron todos los casos de linfomas de células grandes registrados en el archivo de patología quirúrgica entre 1980 y 2002. Se seleccionaron los casos con morfología anaplásica y se realizó inmunohistoquímica para identificar los LACG ALK+.

**Resultados.** Se evaluaron 15 casos, siete fueron ALK-negativos (tres linfomas de Hodgkin y cuatro linfomas difusos de células grandes con inmunofenotipo B). Los ocho pacientes con linfomas ALK-positivos se clasificaron como linfomas anaplásicos de células grandes con inmunofenotipo T/nulo en cinco niños y tres niñas (mediana 8 años). Todos fueron positivos para CD30 y 7 de 8 para antígeno epitelial de membrana. En 2 de 8 se observó positividad exclusivamente citoplasmática para ALK. En 6 de 8 el inmunofenotipo fue T y en dos casos fue nulo.

**Conclusiones.** Los LACG ALK positivos son frecuentes (53%) entre el grupo de linfomas de células grandes con morfología anaplásica. La mayoría muestra co-expresión de CD30, AEM y marcadores genéricos de células T. La utilización de ALK es de utilidad para identificar un subgrupo de linfomas de células grandes.

**Palabras clave:** Linfoma anaplásico de células grandes, ALK-1, inmunohistoquímica, marcadores genéricos.

### ABSTRACT

**Background.** The current classification of anaplastic large cell lymphoma (ALCL) and the correlation of T or B cell lineage with ALK expression are controversial. Although ALCL represents 15% of pediatric lymphomas, the morphologic and immunohistochemical features are not well characterized.

**Methods.** All large cell lymphomas with anaplastic features accessioned in the surgical pathology files between 1980 and 2002 were studied. Immunophenotyping was performed to identify the ALK+ ALCL.

**Results.** Fifteen cases were evaluated, seven were ALK-negative (three Hodgkin lymphomas, and four diffuse large B-cell lymphomas). Eight ALK+, CD30+ ALCL with T/null cell immunophenotype were identified in five boys and three girls (median eight years). Immunostaining with CD30 and EMA was observed in 100 and 87% of cases, respectively. Two of the eight ALCL's had ALK staining restricted to the cytoplasm. Six cases showed T-cell phenotype while only two were considered null-type.

**Conclusions.** ALK positive ALCL's are frequent (53%) among large cell lymphomas with anaplastic features. Most of them express CD30, EMA and generic T-cell markers. The use of ALK protein helps to recognize a subgroup of large cell lymphomas.

**Key words:** Anaplastic large cell lymphoma, ALK-1, immunohistochemical, generic markers.

**E**n niños, los linfomas constituyen el 11% de las neoplasias<sup>1</sup>. Aproximadamente el 50% de estos son linfomas no Hodgkin (LNH), un grupo heterogéneo de neo-

plasias de alto grado que muestran progresión rápida<sup>2</sup>. Histológicamente, se dividen en tres grupos: linfoma difuso de células pequeñas no hendidas (linfoma de Burkitt y tipo-Burkitt), linfoma linfoblástico y linfoma difuso de células grandes. El linfoma anaplásico de células grandes (LACG) se encuentra clasificado dentro del tercer grupo y representa del 10 al 15% de LNH en niños<sup>3,4</sup>.

Esta neoplasia fue incluida en la clasificación de Kiel modificada<sup>9</sup>, como un linfoma anaplásico de células grandes con inmunofenotipo T o B. Aunque la existencia de casos esporádicos de

\* Departamento de Patología. Instituto Nacional de Pediatría

Correspondencia: Dra. Leticia Bornstein Quevedo. Departamento de Patología. Instituto Nacional de Pediatría. Insurgentes Sur 3700-C Col Insurgentes Cuicuilco  
México D.F. 04530 Tel/Fax 1084-5515  
E-mail lbq123@yahoo.com

Recibido: abril, 2006. Aceptado: junio, 2006.

LACG con inmunofenotipo B es controvertible, en la clasificación REAL (*Revised European-American Lymphoma classification*)<sup>10</sup> y la Organización Mundial de la Salud (OMS)<sup>11</sup>, el término LACG se refiere a una neoplasia linfoide formada por células anaplásicas que expresan el antígeno CD30 y presentan inmunofenotipo T o nulo.

En su forma clásica, el LACG está constituido por células neoplásicas grandes, con abundante citoplasma anfófilo, núcleo lobulado y numerosos nucléolos. Estas células se denominan células distintivas "hallmark cells"<sup>12</sup>, debido a que representan una característica distintiva de la neoplasia.

La translocación cromosómica t(2;5) constituida por la fusión de los genes ALK (cinasa de linfoma anaplásico) y NPM (nucleofosmina)<sup>16</sup>, se ha asociado al LACG<sup>8,17</sup>. El producto de esta translocación es la proteína quimérica ALK-NPM (p80), que consiste de la unión del extremo N terminal de NPM con el dominio citoplasmático del receptor de tirosina cinasa ALK<sup>18</sup>. Esta proteína se puede identificar por medio de inmunohistoquímica utilizando el anticuerpo ALK-1.

En varios estudios se ha demostrado la presencia de la translocación t(2;5) o su producto proteico en casos de LACG. La frecuencia de expresión es aproximadamente de 60 a 80%<sup>21,22</sup>. Benharroch<sup>12</sup> y cols. estudiaron un grupo de 123 pacientes con LACG ALK+; aunque demuestran que la combinación de características morfológicas, inmunofenotipo y expresión de ALK definen un subgrupo de LACG frecuente en pacientes jóvenes (edad promedio 21 años), en este trabajo no se analizan las características clínicas y el impacto pronóstico de este hallazgo. Falini y cols.<sup>19</sup>, estudiaron 96 pacientes con LACG, de los cuales 60% fueron ALK+. Sus resultados mostraron que los LACG ALK+, en contraste con los ALK-, fueron más frecuentes en niños y pacientes jóvenes (promedio 22±10 años) con enfermedad avanzada (estadio III/IV), síntomas sistémicos e infiltración extraganglionar<sup>19</sup>. También se observó mejor supervivencia global, 76 vs 15% (p=0.007) en

pacientes con linfomas ALK+<sup>20</sup>. Debido a estas diferencias, se ha propuesto que los linfomas ALK+ representan una enfermedad diferente a los LACG ALK- y que está caracterizada por una alteración genética determinada.

Existen pocos estudios en niños que correlacionan la expresión de CD30 con la morfología, la translocación t(2;5)<sup>21,22</sup> o ambos hechos, t(2;5)(p23;q35). Hutchinson<sup>23</sup> y cols. identificaron expresión de ALK-1 en 19 de 20 linfomas CD30+; al comparar estos casos con otros linfomas de células grandes, no se observaron diferencias en cuanto a supervivencia libre de enfermedad a dos años. Sherman<sup>24</sup> y cols. describieron 17 pacientes con LACG y expresión de ALK. Estos casos mostraron inmunofenotipo T y expresión de CD30 y EMA. En otro estudio<sup>29</sup>, todos los LACG (n=28) fueron positivos para CD30 y ALK1 y mostraron inmunofenotipo T/nulo. La supervivencia fue de 94% con seguimiento promedio de 43 meses.

Aunque muchos de los datos informados respecto a LACG primarios en niños han sido obtenidos de estudios en los que se incluyeron pacientes adultos, se ha propuesto que los LACG CD30 positivos con expresión de ALK y la translocación t(2;5) en pacientes pediátricos, constituyen una entidad clinicopatológica distintiva. El objetivo de este estudio es revisar un grupo de linfomas de células grandes y determinar si la expresión de CD30 y ALK definen un subgrupo de linfomas en población pediátrica.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Del archivo de patología quirúrgica se obtuvieron todos los casos con diagnóstico de linfoma de células grandes entre 1980 y 2002. Todos los casos, teñidos con hematoxilina y eosina, fueron evaluados y se seleccionaron los que mostraron morfología anaplásica. Se estableció el tipo de linfoma anaplásico de células grandes, la presencia de cambios estromales (fibrosis capsular, infiltrado inflamatorio) e infiltración sinusoidal.

Se realizó inmunohistoquímica a este subgrupo de linfomas de células grandes con morfología anaplásica para identificar los casos que correspondieran a LACG.

Se realizaron cortes a 2µ del tejido seleccionado y se montaron en laminillas previamente tratadas con una solución de poli-l-lisina 1:10 (Sigma-Aldrich Co, St. Louis, USA). Se realizó la técnica de inmunohistoquímica con el complejo biotina-estreptavidina/peroxidasa mediante el sistema de detección LSAB+ (Labelled streptavid-Biotin, Dako Corporation, Carpintería Calif. USA). Para la identificación de epítopes se utilizó citrato de sodio al 0.1M pH 6.2 y EDTA 0.1 M pH 9, durante 5 minutos en olla de presión/ horno de microondas y se enfriaron a temperatura ambiente por 20 minutos. Posteriormente las muestras fueron tratadas con peróxido de hidrógeno al 0.9% en medio acuoso e incubadas con albúmina sérica bovina (BSA) al 1% en PBS por cinco minutos, los anticuerpos CD43, proteína ALK-1 (policlonal), CD45RO (UCL-1), CD15 (C3D-1), CD79α (JCB 117), CD30 (Ber-H2), CD3 (policlonal), AEM (E29), y CD20 (L26) (todos de la marca Dako Corporation, Carpintería California, USA) fueron incubados por 45 minutos a temperatura ambiente. El anticuerpo secundario biotinilado y el complejo estreptavidina/peroxidasa se incubaron por 30 minutos a temperatura ambiente.

Para la visualización de la reacción se utilizó como sustrato 3,3'-deaminobencidina-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y se monitoreó al microscopio. Se deshidrataron las laminillas con lavados en alcohol etílico al 50%, 60%, 70%, 96%, alcohol absoluto y xilol.

En la evaluación de inmunohistoquímica se consideró estirpe T si CD3, CD43 y CD45RO fueron positivos en >5% de células neoplásicas. Se consideró tipo nulo si ninguno de ellos fue positivo y estirpe B si CD20 o CD79α fueron positivos en las células neoplásicas. Los casos en los que CD30 y CD15 fueron positivos se clasificaron como linfoma de Hodgkin.

## RESULTADOS

De 70 linfomas de células grandes se identificaron 15 con morfología anaplásica; tres casos fueron positivos con CD30 y CD15 y correspondieron a linfoma de Hodgkin y cuatro mostraron inmunoreactividad para CD20 y CD79α por lo que se diagnosticaron como linfomas difusos de células grandes con inmunofenotipo B. En el estudio se incluyeron ocho pacientes con linfoma anaplásico de células grandes con inmunofenotipo T/nulo en cinco niños y tres niñas con una mediana de edad de ocho años (Cuadro 1). La localización más frecuente fue en ganglios linfáticos periféricos y un caso mostró infiltración en la piel.

**Cuadro 1.** Clasificación e inmunofenotipo de linfomas de células grandes con morfología anaplásica.

No. caso	CD30	AEM	ALK	CD3	CD45RO	CD20	CD79α	CD15	Fenotipo	Diagnóstico
1	+	+	+	+	+	-	-	-	T	LACG
2	-	-	-	-	-	+	+	-	B	LDCG
3	+	+	+	-	+	-	-	-	T	LACG
4	+	+	+	-	+	-	-	-	T	LACG
5	+	-	-	-	-	-	-	-		LH
6	+	+	+	+	+	-	-	-	T	LACG
7	+	-	-	-	-	-	-	+		LH
8	+	-	-	-	-	-	-	+		LH
9	+	-	-	-	+	+	+	-	B	LDCG
10	+	-	+	-	+	-	-	-	N	LACG
11	+	+	-	-	+	+	+	-	B	LDCG
12	+	+	+	-	+	-	-	-	T	LACG
13	+	-	-	-	+	+	+	-	B	LDCG
14	+	+	+	-	-	-	-	-	N	LACG
15	+	+	+	-	+	-	-	-	T	LACG

LH - Linfoma de Hodgkin; LDCG - Linfoma difuso de células grandes B.

LACG- Linfoma Anaplásico de Células Grandes



### Características morfológicas

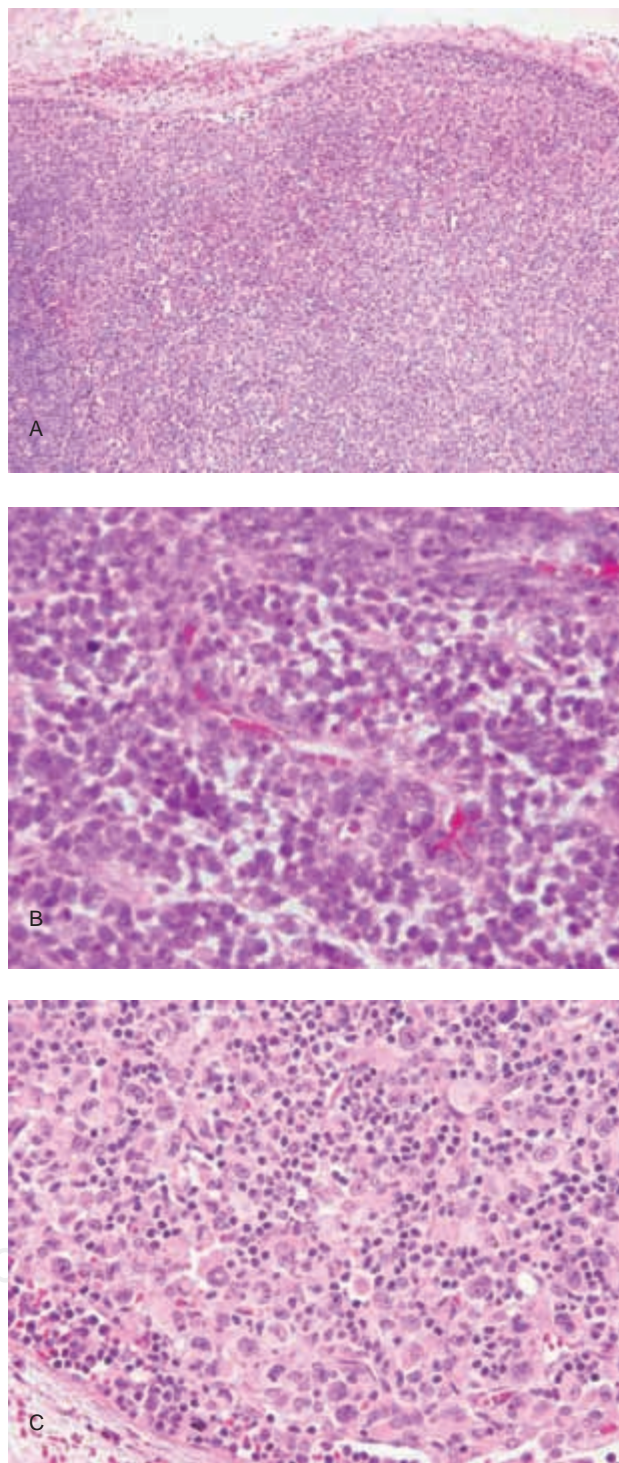
De acuerdo a la clasificación de la OMS, todos los casos correspondieron a la variante común de LACG. La arquitectura ganglionar estaba obliterada en todos los casos, aunque en algunas áreas, se identificaron sinusoides con extensa infiltración por células neoplásicas (Figura 1A). En tres casos, además de los ganglios linfáticos con infiltración masiva por la neoplasia, se identificaron pequeños ganglios en los cuales la arquitectura ganglionar estaba conservada, pero presentaron numerosas células neoplásicas en los sinusoides. En un caso se observó un patrón de infiltración perivascular (Figura 1B). En 2 de 8 casos se identificó infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario en el estroma neoplásico, así como histiocitos. Se observó necrosis en 2 de 8 casos con histiocitos y polimorfonucleares en las áreas vecinas.

Las características citológicas fueron variables. En algunos casos, las células neoplásicas fueron de mediano tamaño y polimorfas, mientras que en otros se observaron células grandes tipo inmunoblasto. Sin embargo, en todos los casos se identificó una población de células grandes, con núcleo excéntrico, lobulado (en herradura) y nucléolos pequeños. Estas células mostraron citoplasma anfófilo y zona eosinófila paranuclear que corresponde a la zona del aparato de Golgi (Figura 1C).

### Inmunohistoquímica

En todos los casos, > 95% de las células neoplásicas mostraron positividad intensa para CD30; la reactividad fue de membrana y en el área del Golgi (Figura 2A). En siete casos se identificó positividad para AEM; el patrón de expresión fue similar a CD30; sin embargo, la proporción de células neoplásicas positivas fue menor.

Por definición, todos los casos fueron positivos para proteína ALK. El 75% (6/8) de casos mostró positividad nuclear y citoplasmática (Figura 2B). En dos de ocho casos (25%) la reactividad del anticuerpo ALK-1 fue sólo citoplasmática (Figura 2C). No se identificó positividad exclusivamente nuclear.



**Figura 1.** Características morfológicas de LACG. A. Infiltración sinusoidal y subcapsular por células linfoides malignas. B. Patrón de infiltración perivascular. C. Variante común de LACG con células distintivas ("Hallmark cells") y en 'rosca'.

**Cuadro 2.** Resultados de inmunohistoquímica en 8 linfomas anaplásicos de células grandes.

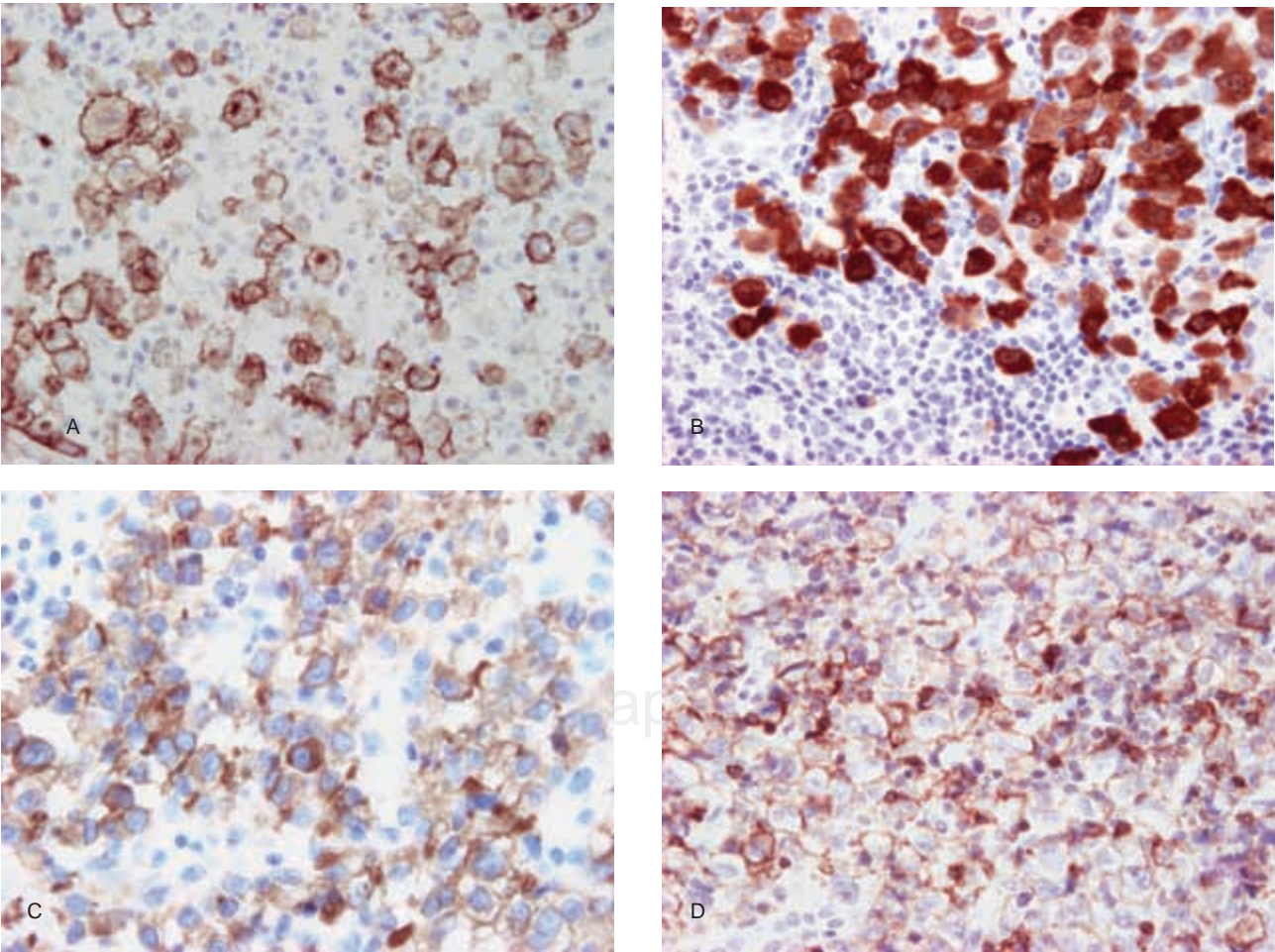
Anticuerpo	No Casos	%
CD30	8	100
ALK	8	100
AEM	7	87
CD3	2	25
CD45 RO	5	62
CD 43	6	75
CD20	0	0
CD79	0	0
CD15	0	0
LMP-1	0	0

En 6 de 8 casos el inmunofenotipo fue T, con positividad para CD3, CD43 o CD45RO (Figura 2D). En dos casos de LACG estos marcadores fueron negativos, por lo que se clasificaron como

tipo nulo. Ningún caso de LACG ALK+ mostró inmunofenotipo B.

**DISCUSIÓN**

En esta serie se identificaron ocho (53%) linfomas anaplásicos de células grandes ALK+ de 15 neoplasias con características anaplásicas. Todos los casos correspondieron a la variante común; no se identificaron otras variantes morfológicas previamente descritas <sup>13,14</sup>. Aunque los LACG ALK-positivos mostraron diversos patrones morfológicos, en ningún caso fue suficiente el número de histiocitos o neutrófilos para categorizar los casos como LACG



**Figura 2.** Inmunohistoquímica en linfomas anaplásicos de células grandes. A. Positividad de membrana y en el área del Golgi para CD30. B. Positividad nuclear y citoplasmática para proteína ALK-1. C. Reacción exclusivamente citoplasmática de ALK-1. D. Positividad de membrana para CD45RO.



linfocítico o rico en neutrófilos. En otras series, se ha descrito una frecuencia de 65<sup>12</sup> a 100%<sup>25</sup> de casos que muestran la variante común; la segunda variante histológica frecuente es el LACG linfocítico (11.3%)<sup>12</sup>. Probablemente, el número reducido de casos en nuestra serie no permitió identificar variantes poco frecuentes.

Al igual que en otras series<sup>12,24,25</sup>, el 100 y 87% de los casos mostraron positividad para CD30 y AEM respectivamente, lo que confirma el valor diagnóstico de estos marcadores en LACG<sup>26</sup>. El AEM es una sialomucina epitelial codificada por el gen MUC1 en el cromosoma 1q21-24<sup>27</sup>, al igual que la molécula CD30/Ki-1 (codificada en 1p36). Es probable que la translocación t(2;5) estimule la expresión de estas moléculas en las células neoplásicas.

La proteína ALK no se expresa normalmente en células linfoides. El anticuerpo monoclonal ALK1 reconoce un epítipo resistente a formol en la proteína quimérica ALK-NPM y en la proteína humana ALK normal<sup>28</sup>. En este trabajo, todos los casos fueron positivos para ALK. Con respecto al patrón de expresión, el 25% (2/8) de los casos mostraron positividad exclusivamente citoplasmática. Esta observación se ha informado previamente con una frecuencia de 15<sup>19</sup> a 20%<sup>12,20,24</sup>. Una posible explicación es que las células neoplásicas presentan alteraciones genéticas diferentes a la translocación t(2;5), en las cuales el gen ALK en el cromosoma 2 se une a un gen diferente a NPM. Es posible que la proteína resultante active ALK cinasa pero no contenga ningún dominio que dirija la proteína al núcleo, por lo que la traducción inmunohistoquímica es la reactividad restringida al citoplasma.

Como en la clasificación de LACG de la OMS<sup>11</sup>, la mayoría de los casos de LACG ALK-positivos en esta serie, mostraron inmunofenotipo T y en ningún caso se observó evidencia de inmunofenotipo B. Por medio de estudios moleculares<sup>6</sup>, se ha mostrado que generalmente los LACG son de origen T. Sin embargo, las células neoplásicas exhiben fenotipo aberrante con pérdida de varios marcadores asociados a células T. El CD3

y CD45RO, que son los marcadores de células T más utilizados, son negativos en más del 50% de LACG; el marcador CD43 generalmente es positivo; sin embargo, su sensibilidad y especificidad como marcador de linaje es baja<sup>6,11</sup>. Cuando se realiza la evaluación de LACG por medio de inmunohistoquímica, ocasionalmente, las células neoplásicas no expresan marcadores T y son clasificadas como tipo nulo. Sin embargo, se ha informado que al analizar este subgrupo con estudios moleculares, muestran rearrreglo de receptores de células T.

Respecto al diagnóstico diferencial se debe considerar el linfoma difuso de células grandes B anaplásico, caracterizado por células grandes, ovaladas o poligonales con núcleos pleomórficos semejantes a células de Reed-Sternberg. Estas células muestran infiltración sinusoidal, patrón de crecimiento sólido e inmunofenotipo B con reactividad para CD20, para CD79 $\alpha$  o para ambos<sup>15</sup>. También puede haber sobreposición morfológica entre LACG y linfoma de Hodgkin. Ocasionalmente, el LACG con infiltración ganglionar parcial puede mostrar patrón nodular y estar asociado con fibrosis. Por otro lado, se ha observado que el LH puede presentar mantos sólidos de variantes de células de Reed-Sternberg que semejan LACG. Sin embargo, utilizando marcadores de células T, ALK, AEM y CD15 es posible hacer la distinción entre las dos categorías<sup>11</sup>. Por último, se debe considerar la histiocitosis/sarcoma de células de Langerhans. Se trata de neoplasias con infiltración sinusoidal por células grandes, de núcleos mellados, lobulados o ambos hechos, con hendiduras nucleares y citoplasma abundante. Estas células muestran expresión de CD1a y proteína S-100 y son negativas para marcadores genéricos de células T, así como CD30, AEM y ALK<sup>13</sup>.

Los resultados de esta serie están de acuerdo con informes previos que indican que los LACG ALK positivos representan una entidad clinicopatológica que se presenta en pacientes jóvenes y co-expresa CD30, AEM y marcadores genéricos de células T. La

identificación, por medio de inmunohistoquímica, de expresión de ALK tiene importantes implicaciones de clasificación y diagnóstico para el estudio de linfomas de células grandes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Grovas A, Fremgen A, Rauch A, Ruymann FB, Hutchinson CL, Winchester DP, Menck HR. The National Cancer database report on patterns of childhood cancer in the United States. *Cancer* 1997;80:2321-32.
- Mora J, Filippa DA, Thaler HT, Polyak T, Cranor ML, Wollner N. Large cell non-Hodgkin lymphoma of childhood. *Cancer* 2000;88:186-97.
- Murphy SB. Pediatric lymphomas: recent advances and commentary on Ki-1 positive anaplastic large cell lymphoma of childhood. *Ann Oncol* 1994;5:S1.
- Wright D, Mc Keever P, Carter R. Childhood non-Hodgkin lymphomas in the United Kingdom: Findings from de UK Children's Cancer Study. *J Clin Pathol* 1997;50:128-35.
- Schwab U, Stein H, Lemke H, Kirchner H, Schaadt M. Production of a monoclonal antibody specific for Hodgkin and Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease and a subset of normal lymphoid cells. *Nature* 1982;299:65-7.
- Jaffe ES. Anaplastic large cell lymphoma: The shifting sands of diagnostic hematopathology. *Mod Pathol* 2001;14:219-28.
- Stein H, Mason DY, Gardes J, O'Connor N, Wainscoat J, Pallesen G, Gatter K, Falini B, Delsol G, Lemke H, Schwarting R, Lennert K. The expression of Hodgkin's disease associated Ki-1 antigen in reactive and neoplastic lymphoid tissues: evidence that Sternberg-Reed cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. *Blood* 1985;66:848-58.
- Rimokh R, Magaud JP, Berger F, Samarit J, Coiffier B, Germain D, Mason DY. A translocation involving the specific breakpoint (q35) on chromosome 5 is characteristic of anaplastic large cell lymphoma ("Ki-1 lymphoma"). *Br J Hematol* 1989;71:31-40.
- Stansfeld A, Diebold J, Kapanci Y, Kelenyi G, Lennert K, Mioduszeska O, Noel H, Rilke F, Sundstrom C, Van Unnik J, Wright D. Updated Kiel classification for lymphomas. *Lancet* 1988;1:292-301.
- Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks P, Chan JKC, Cleary ML, Delsol G, De Wolf Peters C, Falini B, Gatter KC, Grogan TM, Issacson PG, Knowles DM, Mason DY, Muller-Hermelink HK, Pileri SA, Ralfkier E, Warnke RA. A revised European American classification of lymphoid neoplasms: A proposal for the International Lymphoid Study Group. *Blood* 1994;84:1361-70.
- Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Pathology and Genetics. Tumours of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. World Health Organization of Tumours. IARC Press, Lyon. 2001.
- Benharroch D, Meguerian-Bedoyan Z, Lamant L, Amin C, Brugieres L, Terrier-Lacombe MJ, Haralambieva E, Pulford K, Pileri S, Morris SW, Mason DY, Delsol G. ALK-positive Lymphoma: A single disease with a broad spectrum of morphology. *Blood* 1998;91:2076-84.
- Pileri S, Falini B, Delsol G, Stein H, Baglioni P, Poggi S. Lymphohistiocytic T-cell lymphoma (anaplastic large cell lymphoma CD30+/Ki1+) with a high content of reactive histiocytes. *Histopathol* 1990;16:383-91.
- Kinney M, Collins M, Greer J, Whitlock J, Sioutos N, Kadin M. A small-cell-predominant variant of primary Ki-1 (CD30) + T-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 1993;17:859-68.
- Haralambieva E, Pulford KA, Lamant L, Pileri S, Roncador G, Gatter KC, Delsol G, Mason DY. Anaplastic large-cell lymphomas of B-cell phenotype are anaplastic lymphoma kinase (ALK) negative and belong to the spectrum of diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Hematol* 2000;109:584-91.
- Morris SW, Kirstein MN, Valentine MB, Dittmer KG, Shapiro DN, Saltman DL, Look AT. Fusion of the kinase gene, ALK, to a nucleolar protein gene, NPM, in non-Hodgkin's lymphoma. *Science* 1994;263:1281-90.
- Bitter MA, Franklin WA, Larson RA, McKeithan TW, Rubin CM, Le Beau MM, Stephens JK, Vardiman JW. Morphology in Ki-1 (CD30) positive non-Hodgkin's lymphoma is correlated with clinical features and a unique chromosomal abnormality, t(2;5)(p23;q35). *Am J Surg Pathol* 1990;14:305-16.
- Shiota M, Nakamura S, Ichinohasama R, Abe M, Akagi T, Takashita M, Mori N, Fujimoto J. Anaplastic large cell lymphoma expressing the novel chimeric protein p80<sup>NPM/ALK</sup>. A distinct clinicopathologic entity. *Blood* 1995;86:1954-60.
- Falini B, Bigerna B, Fizzotti M, Pulford K, Pileri SA, Delsol G, Carbone A, Paulli M, Magrini U, Menestrina F, Giardini R, Pilotti S, Mezzelani A, Ugolini B, Billi M, Pucciarini A, Pacini R, Pellici PG, Flenghi L. ALK expression defines a distinct group of T/Null lymphomas ("ALK Lymphomas") with a wide morphological spectrum. *Am J Pathol* 1998;153:875-86.
- Falini B, Pileri S, Zinzani PL, Carbone A, Zagonel V, Wolf-Peeters C, Verhoef G, Menestrina F, Todeschini G, Paulli M, Lazzarino M, Giardini R, Aiello A, Foss HD, Araujo I, Fizzotti M, Pellici PG, Flenghi L, Martelli MF, Santucci A. ALK+ Lymphoma: clinico-pathological findings and outcome. *Blood* 1999;93:2697-706.
- Sandlund J, Pui C, Roberts W. Clinicopathologic features and treatment outcome of children with large-cell lymphoma and the t(2;5)(p23;q35). *Blood* 1994;84:2467-71.
- Gordon B, Weisenburger D, Warkentin P, et al. Peripheral T-cell lymphoma in childhood and adolescence. *Cancer* 1993;71:257-63.
- Hutchinson RE, Banki K, Shuster J, Barrett D, Dieck C, Bernard CW, Murphy B, Link P, Laver J, Schwenn M, Mathew P, Morris SW. Use of the anti-ALK antibody in the characterization of anaplastic large cell lymphoma of childhood. *Ann Oncol* 1997;8:S37-S42.
- Sherman CG, Zielenska M, Lorenzana AN, Pulford K, Mason DY, Hutchinson RE, Thorner PS. Morphological and phenotypic features in pediatric large cell lymphoma and their correlation with ALK expression and the t(2;5)(p23;q35). *Pediatr Develop Pathol* 2001;4:129-37.
- Nakamura Sh, Shiota M, Nakagawa A, Yatabe Y, Kijima M, Motoori T, Suzuki R, Kagami Y. Anaplastic large cell lymphoma: A distinct molecular pathologic entity. *Am J Surg Pathol* 1997;21:1420-32.
- Delsol G, Al Saati T, Gatter KC, Gerdes J, Schwarting R, Caveriére P, Rigal-Huguet F, Robert A, Stein H, Mason DY. Coexpression of epithelial membrane antigen (EMA), Hi-1 and interleukin-2 receptor by anaplastic large cell lymphoma. Diagnostic value in so-called malignant histiocytosis. *Am J Pathol* 1988;130:39-45.
- Hilkens J, Ligtenberg MJL, Vos HL, Litvinov SV. Cell membrane associated mucins and their adhesion-modulating properties. *Trend Biochem Sci* 1992;17:359-63.
- Pulford K, Lammant I, Morris S. Detection of anaplastic large cell lymphoma kinase (ALK) and nucleolar protein nucleophosmin (NPM)- ALK proteins in normal and neoplastic cells with the monoclonal antibody ALK1. *Blood* 1997;89:1394-04.
- Bornstein-Quevedo L, Lehmann L, Vargas SO, Kosakewich HPW, Perez-Atayde AR. ALK+ Anaplastic large cell lymphoma in children. A clinicopathologic analysis. *Mod Pathol* 2003;16:1P.