

자궁경부 종양 환자에 있어 인유두종바이러스 DNA chip 검사와 하이브리드캡처 II 검사 간의 유용성 비교

연세대학교 의과대학 산부인과학교실
권한성 · 김영태 · 김재욱 · 김성훈

Comparison of Oligonucleotide Microarray-Based Test with Hybrid Capture- Based Test for Detecting Carcinogenic HPV in Patients with CIN and Invasive Cervical Cancer

Han Sung Kwon, M.D, Young Tae Kim, M.D., Jae Wook Kim, M.D., Sung Hoon Kim, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Objective : The detection of high-risk human papilloma virus (HPV) allows us to predict the presence and future development of cervical intraepithelial neoplasia. The aim of this study was to evaluate the efficacy and diagnostic performance of hybrid capture (HC) II and oligonucleotide microarray (HPV DNA chip) in detecting high risk HPV.

Methods : Cytologic study, HC II, HPV DNA chip test and pathologic study (punch biopsy, cone biopsy or hysterectomy) were performed on 102 patients. The screening performance was evaluated, such as sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV).

Results : HPV tests were performed to detect high-risk types (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 and 68). The sensitivity of each test to detect low grade cervical intraepithelial neoplasia (LGCIN), high grade cervical intraepithelial neoplasia (HGCIN) and invasive cancer was 65.7% in HC II and 85.7% in oligonucleotide microarray. The combination of each test and cytologic study resulted in higher sensitivities, 90.0% in HC II and 95.5% in oligonucleotide. For patients with HGCIN and invasive cancer, the sensitivity was 71.7% in HC II and 86.8% in oligonucleotide microarray. In cases of multiple HPV subtype infection, the PPV of DNA chip was 89.5%.

Conclusion : DNA chip test was more sensitive in detecting women with CIN lesion/invasive cancer and high risk HPV infection than HC II in a single test but no significant difference is found when combined with cytologic study. There was a highly significant correlation between multiple HPV subtype infection and CIN lesion/invasive cancer.

Key Words : HPV DNA chips test, Hybrid capture II, Screening performance

서 론

자궁경부암은 그 자연사가 밝혀지면서 전암병변 및 초기 침윤성 암 단계에서 발견될 시에 성공적인 치료가 가능하지만 진행성 및 전이성 자궁경부암 환자에서는 아직 불량한 치료 성적을 나타내고 있으므로 암발생 빈도와 암에 의한 사망률의 감소를 위한 효율적인 치료 전략이 절실하게 필요한 질환이다.

Papanicolaou smear (pap smear)는 자궁경부의 세포진 검사로서 1939년 Papanicolaou와 Traut에 의해 자궁경부암의 선별검사로 도입된 이후 침윤성 자궁경부암의 발생률과 그에 따른 사망률의 급격한 감소를 가져왔다. 그러나 지난 10년간 우리나라에서 매년 3000여명의 새로운 자궁경부암 환자가 발생하였으며, 전세계적으로도 매년 약 400000명이 진단되고 약 200000명이 사망하는 것으로 조사되고 있다.^{1,3} 이는 세포진 검

사 자체의 진단적 한계와 관련이 있다고 하겠다. 자궁경부 세포진 검사는 여러 문헌에 의하면 15-50%의 위음성율이 보고되고 있으며 자궁경부암의 경우에도 많게는 50%에 달하는 것으로 조사되었다.^{4,5} 또한, 고등급병변(high grade squamous intraepithelial lesion; HGSIL)에 대한 낮은 민감도(sensitivity)와 예측도(predictive value)가 보고되고 있으며,^{6,8} 선 병변(glandular lesion)이나 선암(adenocarcinoma)에 대한 낮은 선별력으로 인해 자궁경부암의 증가를 가져왔다는 보고도 있다.^{9,10} 따라서, 이러한 한계를 극복하기 위한 세포진 검사의 정도관리(quality control) 및 보조적인 추가검사의 필요성이 대두되고 있다.

1970년대 말 인유두종 바이러스(human papilloma virus; HPV)가 자궁경부암 발병에 주요한 인자라는 사실이 밝혀진 이후,¹¹ 인유두종 바이러스와 그 검사법에 대한 많은 연구가 진행되어 왔으며 여러 가지 인유두종바이러스 검사법은 크게 하이브리드캡처, Southern blot 및 dot blot, filter in situ hybridization 등과 같은 HPV DNA 직접확인법과 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction; PCR)을 통해 HPV DNA의 증폭을 이용하는 방법이 있다. 본 연구의 저자들은 여러 검사법 중 하이브리드캡처 검사법(hybrid capture II)과 최근 개발되어 관심의 대상이 되고 있는 인유두종 바이러스 DNA chip 검사법(HPV DNA chips test; HPV oligonucleotide microarray test)의 임상적 효용성을 비교해 보고, 인유두종 바이러스 DNA chip 검사법을 통해 알 수 있는 인유두종 바이러스 다중 감염(multiple infection)과 자궁경부 병변과의 상관 관계를 알아보고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

2001년 12월부터 2002년 2월까지 연세대학교 의과대학 부속 신촌 세브란스병원 산부인과 외래에 방문하여 자궁경부 세포진 검사, 하이브리드캡처 검사법(hybrid capture II)과 인유두종 바이러스 DNA chip 검사법(HPV DNA chips test; HPV oligonucleotide microarray test)을 순차적으로 시행받은 138명 중에서 이후 질확대경 조준하 생검(colposcopically directed biopsy), 자궁경부 원추형 생검(cone biopsy) 또는 자궁적출술을 통해 조직학적 확진이 이루어진 102명을 대상으로 하였다. 총 102명의 대상군은 그 조직학적

확진 결과에 따라 비특이 만성 염증(non-specific inflammation), 위축(atrophy), 비신생물성 병변(non-neoplastic lesion) 등은 대조군(control group)으로, koilocytotic atypia, 경증 자궁경부 상피내 종양은 저등급 자궁경부 상피내 종양 군(low grade cervical intraepithelial neoplasia; LGCIN)으로, 중등도와 중증 자궁경부 상피내 종양, 그리고 자궁경부 상피내암(carcinoma in situ)은 고등급 자궁경부 상피내 종양 군(high grade cervical intraepithelial neoplasia; HGCIN)군으로 하였고, 침윤성 암(invasive cancer)군을 포함해 4개의 군으로 분류하였다.

2. 연구 방법

1) 자궁경부 세포진 검사와 인유두종 바이러스 검사
자궁경부 세포진 검사는 사이토브리쉬로 자궁경부 내구(endocervix)에 삽입하여 충분히 문질러 세포를 채취하였고 스파툴라(spatula)로 자궁경부 외구와 이행대(transformation zone) 주위를 원형으로 수회 문질러 세포를 충분히 얻을 수 있도록 한 후 검체를 슬라이드에 도말하고, 95% 에탄올에 고정하였다. The Bethesda system에 따라 판독하였고 그 결과 ASCUS 이상(koilocytotic atypia 포함)일 때 양성으로 하였다. 하이브리드캡처 검사법(hybrid capture II)과 인유두종 바이러스 DNA chip 검사(HPV DNA chips test; HPV oligonucleotide microarray test)는 각각 Digene과 (주) 바이오메드랩에서 공급된 키트(kit)에 포함된 사이토브리쉬로 자궁경부 내구와 외구 주위를 충분히 문질러 용액(transport medium)에 넣은 후 즉시 검사실로 이송되었다.

하이브리드캡처 II는 6, 11, 42, 43, 44 등 5가지의 저위험 인유두종 바이러스와 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68 등 13가지의 고위험 인유두종 바이러스에 대한 검색이 가능한 키트가 있으나 본 연구에서는 고위험 인유두종 바이러스에 대한 probe가 사용되었다. 하이브리드캡처 II는 검체를 denaturation reagent와 섞은 후 65°C에서 45분간 배양한 후 13가지 type-specific RNA probe가 들어있는 용액과 섞어 65°C에서 60분간 배양하여 고위험 인유두종 바이러스가 있을 시 RNA-DNA hybrid가 포함된 용액을 microplate 표면에 부착시킨 후 알카라인 인산효소(alkaline phosphatase)와 결합된 교잡체 특이항체(hybrid specific antibody)를 넣고 화학발광물질(chemiluminescent substrate)을 넣고 15분간 배양한 후 DML 2000

luminometer를 이용해 대조 검체에 대한 relative light unit (RLU) 값이 1.0 이상일 때 양성으로 하였다.

HPV DNA chip 검사는 하이브리드캡처 II보다 저위험 인유두종 바이러스는 34, 40형, 고위험 인유두종 바이러스는 66, 69 형 등 각각 2가지 종이 많은 7가지 저위험 인유두종 바이러스와 15가지 고위험 인유두종 바이러스에 대해 각각의 유전형(genotype)을 검색하였다. 검색 과정은, 먼저 자궁경부 세포진 도말 검체에서 DNA를 채취하기 위해 1 ml의 1X PBS를 첨가한 후 10분간 12000 rpm으로 원심분리(4°C)를 하여 상등액은 제거하였다. 10 µl의 0.1 N NaOH/2 M NaCl을 가한 후 95°C에서 10분간 증탕을 한 후 90 µl의 TE buffer (pH 8.0)에 녹여 spin down하여 DNA를 추출하였다. 인유두종 바이러스 아형을 검사하기 위하여 HPV DNA chip (BioMedlab, Seoul, Korea) 키트를 사용하였고 설명서에 제시된 사용방법을 따라 인유두종바이러스 유전형을 검사하였다. HPV DNA chip 키트는 알데히드로 변형된 슬라이드에 적정 농도의 15가지 고위험 인유두종 바이러스와 7가지 저위험 인유두종 바이러스의 type specific oligonucleotide probe와 control로 고정된 β-globin에 대한 probe (M)로 구성되어있다(Fig. 1). 추출된 DNA를 주형으로 하여 키트에서 제공하는 시발체(HPV primer I: 5'TTT ACT GTG GTA GAT ACT AC-3', HPV primer II: 5'-GAA AAA TAA ACT GTA AAT CAT ATT C-3', β-globin PC03: 5'-TGC ACC TGA CTC CTG AGG GAA GTC TGC CG-3', β-globin PC04: 5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CCT TCG CCC AC-3')를 이용하여 HPV는 아형 검사를 위하여 증폭하였고 β-globin은 DNA 증폭 여부를 판단하기 위해 (+) control로 증폭하였다. 유전자 절편의 증폭을 위한 반응액 조성으로 50 µl reaction 시 10X PCR buffer (Mg²⁺ free, TaKaRa) 5 µl, 25 mM MgCl₂ 8 µl, Primer I, 25 pmole/µl 0.5 µl, primer II, 25 pmole/µl 0.5 µl, dNTP (2 mM dATP, dTTP, dGTP, 1.0 mM dCTP) 혼합액 1 µl, 25 nmol Cy5-dUTP 0.1 µl, taq DNA polymerase (TaKaRa, 5 U/µl) 2 U, template 2 µl를 각각 첨가하였다. PCR 온도의 조건으로 우선 94°C에서 5분간 초기변성을 시행하였다. 그 후 94°C에서 1분, 50°C에서 2분, 72°C에서 30초간 수행하기를 5주기 실시 후 다시 94°C에서 1분, 50°C에서 2분, 72°C에서 30초간 수행하기를 5주기 실시 후 다시 94°C에서 1분, 50°C에서 2분, 72°C에서 15초간 30주기를 수행하였다. 마지막으로 72°C에서 2분간 유지시킨 뒤 4°C에서 보관하여 교

잡반응(hybridization)에 이용하였다. 교잡반응은 증폭된 검체 DNA (HPV PCR product 10 µl + beta-globin PCR product 5 µl + 멸균수 25 µl)에 4 µl (1/10 vol.)의 DNA 변성용액(3 N NaOH)을 가한 후 실온에서 5분간 방치하였다. 1 M Tris-Hcl (pH 7.2) 2 µl (1/20 vol.)와 DNA 변성용액(3 N Hcl) 4 µl (1/10 vol.)를 가한 후 얼음 위에서 5분간 방치하였다. 12X SSPE 50 µl (100 µl volume의 cover slip의 경우), 10% SDS 0.5 µl를 가하여 잘 섞는다. 이를 HPV DNA chip에 가하여 40°C에서 습도를 유지하며 반응시킴으로써 반응 형광이 나타나도록 유도하였다. 그 후 3X SSPE buffer에서 2분간 세척하고, 다시 1X SSPE buffer에서 2분간 세척하였다. 인유두종바이러스의 유전형 평가는 DNA chip scanner (GSI Lumonics, Scanarray lite, Ottawa, Canada)를 이용하여 검색하였다. Fig. 2는 단일 감염, 다중 감염, 음성 결과 각각의 예를 나타낸 것으로 슬라이드 위에 발색된 probe에 따라 유전형을 판독한다. 예를 들어 Fig. 2의 맨 오른쪽 것은 인유두종 바이러스 16, 52, 59형의 다중 감염을 나타낸다.

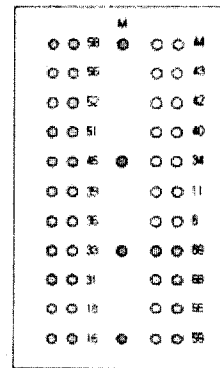


Fig. 1. Composition of HPV DNA chip format.

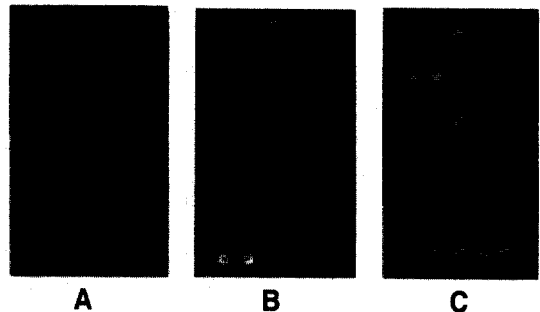


Fig. 2. Results of HPV DNA chip scanner.

A. Negative sample B. HPV 16 infection C. HPV 16, 52, 59 multiple infection

2) 통계 방법

통계 방법은 일치도 분석을 위해 Kochen의 kappa 검정법을 이용하였으며 p 값은 0.05 미만일 때 통계학적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1) 환자군의 특성

대상 환자 102명의 평균 연령은 43.8 (18-71)세, 평균 임신력은 4.8회, 평균 분만력은 2.5회였다.

2) 인유두종 바이러스 검사법의 결과 일치 여부

하이브리드캡처 II와 HPV DNA chip 검사를 모두 시행한 총 138명 중, 두 검사법 모두 양성인 경우가 52명, 모두 음성인 경우가 38명으로 90명의 결과가 일치하였고 두 검사법 간 일치도를 보기 위한 kappa 값은 0.2867이었다(Table 1). 두 검사간 결과가 서로 다르며 이후 조직학적 확진된 경우에 있어 병변의 정도에 따른 분포를 보면, 하이브리드캡처 II는 양성이나 HPV DNA chip 검사가 음성인 경우가 10명이었고 이중 이후 조직학적 확진받은 5명에 대하여 LGCIN 군 1명, HGCIN 군이 3명이었다. 또한 HPV DNA chip 검사가 양성이나 하이브리드캡처 II 검사는 음성인 경우가 38명이었고 이중 이후 조직학적 확진받은 30명에 대하여 control 군 13명, LGCIN 군 7명, HGCIN 군 8명, 침윤성 암인 환자가 2명으로 하이브리드캡처 II는 양성이나 HPV DNA chip 검사가 양성인 환자의 1/3이 HGCIN 이상의 병변을 가지고 있는 것으로 나타났다.

Table 1. Corresponding result of hybrid capture versus DNA chip (n=138)

HC	DNA chip	Positive	Negative
Positive		52	10
Negative		38	38

HC II: hybrid capture II
kappa 0.2867 (95%CI, 0.1265-0.4469)

3) 각 인유두종 바이러스 검사와 조직학적 진단과의 관계

하이브리드캡처 II 검사가 양성인 52명 중 6명(11.5%)이 control 군이었고, 8명은 LGCIN 군이였으며, 38명(73.1%)는 HGCIN 이상의 병변이었다. 하이브리드캡처 II 검사 결과가 음성인 50명 중 26명(52.0%)이

control 군이었고 15명(30.0%)은 HGCIN 이상의 병변이었고 이중 침윤성 암도 3명 있었다. HPV DNA chip 검사는 양성인 77명 중 18명(23.4%)이 control 군이었고, 45명(58.4%)이 HGCIN 이상의 병변이었다. 음성인 25명의 경우는 침윤성 암 1명을 포함하여 8명(32.0%)에서 HGCIN 이상의 병변이었다. 조직학적 진단별로 하이브리드캡처 II, HPV DNA chip 검사의 양성율을 보면 control 군은 18.8%, 56.3%, LGCIN 군은 47.1%, 88.2%, HGCIN 이상 병변 군에서는 71.2%, 84.9%에서 각각 양성 소견 보였다(Table 2).

Table 2. Histologic findings related to result of HPV tests

	Control (n=32)	LGCIN (n=17)	HGCIN (n=38)	Invasive ca (n=15)	Total (n=102)
HC II					
Positive	6 (18.8)*	8 (47.1)	26 (68.4)	12 (80.0)	52
Negative	26 (81.2)	9 (52.9)	12 (31.6)	3 (20.0)	50
DNA chip					
Positive	18 (56.3)	15 (88.2)	31 (81.6)	14 (93.3)	77
Negative	14 (43.7)	3 (17.6)	7 (18.4)	1 (6.7)	25

* (): %

LGCIN: low grade cervical intraepithelial neoplasia

HGCIN: high grade cervical intraepithelial neoplasia

HC II: hybrid capture II

4) 두 검사법의 임상적 유용성 비교

LGCIN 이상의 소견을 보인 경우를 양성으로 간주하여 분석하였을 때, 세포진 검사, 하이브리드캡처 II, HPV DNA chip 검사의 민감도(sensitivity)는 각각 86.1%, 65.7%, 85.9%, 특이도(specificity)는 각각 71.9%, 81.3%, 43.8%, 양성 예측도(positive predictive value)는 각각 86.2%, 88.5%, 77.2%, 음성 예측도(negative predictive value)는 각각 62.2%, 52.0%, 60.9%이었고, 위음성율(false negative rate)은 각각 13.9%, 34.3%, 14.1%였다(Table 3). HGCIN 이상의 소견을 보인 경우를 양성으로 하여 분석하였을 때, 민감도(sensitivity)는 각각 84.9%, 71.1%, 86.8%, 특이도(specificity)는 각각 59.2%, 71.4%, 34.7%, 양성 예측도(positive predictive value)는 각각 69.2%, 73.1%, 58.2%, 음성 예측도(negative predictive value)는 각각 78.4%, 70.0%, 73.9%이었고, 위음성율(false negative rate)은 각각 15.1%, 28.3%, 13.2%였다. 하이브리드캡처 II와 HPV DNA chip검사를 각각 세포진 검사와 병행하였을 때 LGCIN 이상의 병변에 대한 민감도는 각각 90.0%, 95.5%, 특

이도(specificity)는 63.6%, 33.3%, 양성 예측도(positive predictive value)는 85.1%, 76.1%, 음성 예측도(negative predictive value)는 75.0%, 78.6%였고 위음성율(false negative rate)은 10.0%, 4.5%였다(Table 4).

Table 3. Screening properties of 2 HPV tests

	HC II (%)	DNA chip (%)	Cytology (%)
sensitivity	65.7	85.9	86.1
specificity	81.3	43.8	71.9
PPV	88.5	77.2	86.2
NPV	52.0	60.9	62.2

HC II: hybrid capture II
 PPV: positive predictive value
 NPV: negative predictive value

Table 4. Screening properties of each test combined with cytologic test

	HC II (%)	DNA chip (%)
sensitivity	90.0	95.5
specificity	63.6	33.3
PPV	85.1	76.1
NPV	75.0	78.6

HC II: hybrid capture II
 PPV: positive predictive value
 NPV: negative predictive value

5) 다중 감염(multiple infection)과 자궁경부 병변과의 관계

HPV DNA chip검사를 통해 고위험 인유두종 바이러스 각각의 유전형(genotype)과 다중 감염 여부를 알

수 있었다. 2가지 이상의 고위험 인유두종 바이러스의 아형에 감염되었을 때 총 20명 중 LGCIN 이상의 병변이 17명(85.0%)였으며 한 종류의 인유두종 바이러스에 감염되었을 때는 74.1%였다. 다중 감염과 단일 감염의 두 군 간 평균 연령은 통계학상 유의한 차이가 없었다(Table 5).

고 찰

1940년 대 초반 자궁경부세포진 검사가 자궁경부암의 선별 검사로 도입된 이후 암발생 및 사망률 감소에 기여한 점에 있어서는 논란의 여지가 없다. 그러나, 시간이 지남에 따라 세포진 검사는 15-50%에 달하는 높은 위음성율 등 그 한계를 절감하게 되었다.^{4,5} 이에 따라 세포진 검사보다 더욱 높은 민감도와 특이도를 가진 새로운 검진 방법의 연구를 불러 일으켰고, 많은 보조적 검사 방법이 개발되고 있다. 1977년 Zur Hausen이 인유두종바이러스의 감염이 자궁경부암과 관련이 있다고 보고한 이후 현재까지 인유두종바이러스에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다.¹¹ 이로 인해 인유두종바이러스의 유전형에 따라 자궁경부암 유발 능력에 차이가 있음을 알게 되어 주로 침윤암을 포함한 고등급 병변을 일으키는 고위험 바이러스와 콘딜로마 등 양성 질환을 일으키는 저위험 바이러스로 분류되었다.¹²⁻¹⁵ Koutsky (1992) 등이 보고한 바에 따르면 고위험 인유두종바이러스가 자궁경부 편평상피내병변을 일으키는데 8-11배의 상대적 위험도를 가진다고 하였다.¹⁶ 또한 Gaarenstrom (1994) 등은 저등급병변을 가진 환자군을 6개월에서 42개월까지 추적 관찰하였

Table 5. Multiple HPV infection in the different groups

	Control (n=32)	Low grade CIN (n=17)	High grade CIN (n=38)	Invasive ca. (n=15)
Negative	14(1/1) (HPV 40/other)	2	7(4) (other)	1
1 subtype	15 HPV 16(11), 39 52(2), 58	9 HPV 16(6), 39(2), 66	21 HPV 16(12), 18, 35 51, 52(2) 58(4)	13 HPV 16(7), 52(2), 56 58(2), 68
2 subtype	2 HPV 16/58 16/66	6 HPV 16/52(2) 16/44, 16/69 16/18, 16/58	9 HPV 16/18(2) 16/58(2), 16/52(2) 16/33, 16/45, 33/39	1 HPV 16/52
3 subtype	1 HPV 18/34/42	0	1 HPV 16/18/68	0

을 때, 고등급병변으로 진행되는 빈도가 고위험 인유두종바이러스 양성군에서 21%였고 음성군에서는 없음을 보고하였다.¹⁷ 이처럼 고위험 인유두종바이러스가 양성인 저등급병변이 많은 수에서 고등급병변으로 진행된다는 사실은 인유두종바이러스 검사법의 필요성을 증대시키게 되었다.^{16,17} 이중 하이브리드캡처 검사법은 현재 가장 널리 이용되고 있는 방법이며, 이전의 여러 연구에서 하이브리드캡처 I 검사법이 PCR 이용한 방법에 비해 민감도는 낮고, 특이도와 양성 예측도는 높다고 하였다.¹⁸⁻²⁶ 이후 1988년 유럽에서 하이브리드캡처 II 검사법이 도입되었다. 이는 이전의 I세대 검사법에 비해 시험관 대신 microtiter well을 사용하였고 luminometer가 개선되었고 HPV 39, 58, 59, 68의 탐침(probe)이 추가되었다는 데 차이가 있다. 이후 아직까지 하이브리드캡처 II와 PCR을 이용한 방법 간에 임상적 유용성을 비교한 연구는 많지 않으나 일부 연구에 의하면 두 검사법 간의 민감도와 특이도가 별다른 차이가 없다고 하였다.²⁷

본 연구에서는 하이브리드캡처 II와 최근에 HPV DNA의 PCR 증폭 방법과 microarray 기술을 이용한 HPV DNA chip 검사법 간의 임상적 유용성을 비교하였다. 본 저자들은 세포진 검사, 하이브리드캡처 II, HPV DNA chip 검사를 순차적으로 시행한 이후 질확대경 조준하 생검, 자궁경부 원추형 생검 또는 자궁적출술을 통해 조직학적 진단된 경우를 대상으로 하여 인유두종바이러스와 자궁경부 병변 사이의 상관 관계를 보다 명확히 규명하고자 하였다. 침윤성 암을 포함한 HGCIN에 대해 단독 검사로 시행되었을 때 민감도는 DNA chip 검사법(86.8%)이 하이브리드캡처 II(71.7%) 보다 높았고 이는 세포진 검사(84.9%)보다 약간 높았다. 특이도는 하이브리드캡처 II(71.4%), 세포진 검사(59.2) DNA chip 검사법(34.7%) 순이었다. 하이브리드캡처 II는 음성이나 HPV DNA chip 검사는 양성인 경우, 조직학적 확진 결과를 보면, 총 30명 중 상피내암이 포함된 HGCIN이 8명, 침윤성 암이 2명으로 1/3이 HGCIN 이상이었다. HPV DNA chip test는 음성이나 조직학적 확진 조건상 HGCIN 이상인 경우는 총 53명 중 8명이었고 이중 5명은 DNA chip 검사 결과가 'other type'으로 표시된 것이었다. 세포진 검사의 위음성율이 문제시되고 있는 점과 고위험 인유두종바이러스의 감염이 HGCIN에 수년 정도 선행된다는 보고 등은 단독 검사로서 민감도가 높은 HPV DNA chip 검사법이 유리한 면이 있다고 생각할 수 있다.^{16,17} 그러나,

세포진 검사와 인유두종바이러스 검사를 병행하였을 경우, HGCIN 이상을 대상으로 하였을 때 민감도는 하이브리드캡처 II(96.2%)와 HPV DNA chip 검사법(94.3%) 모두 단독 검사 시보다 높아진 소견을 보였고 이는 이전의 다른 보고와도 일치한다.^{6,28,29} 특이도를 제외한 양성 예측도, 음성 예측도 역시 단독 검사 시보다 향상되었고 특히 하이브리드캡처 II의 음성 예측도는 약 93%로 인유두종바이러스 검사와 세포진 검사의 병행으로 추적 관찰 interval의 연장을 통한 비용 절감의 가능성을 제시한다고 하겠다. 또한 본 연구에서 DNA chip 검사법의 특이도가 낮음으로 인해 질확대경 검사 등 추가 검사에 따른 전체 비용 상승이 우려될 수 있으나, 현재까지 연구된 인유두종바이러스의 가능한 역할 중 비교적 널리 인정되고 있는 경계성 세포진 검사(borderline smear) 환자군을 선별하여 치료하는 진단 전략으로 이를 통한 비용 절감 가능성은 이미 보고된 바 있다.³⁰

HPV DNA chip 검사법을 통해 인유두종바이러스 각각의 유전형과 다중 감염 여부를 알 수 있었다. 이전의 연구에서도 16, 18형을 비롯한 비교적 흔한 몇몇 인유두종바이러스에 대해 PCR을 이용한 연구에 의하면 다중 감염은 연령, 고위험 유전형과 함께 지속적 감염(persistent infection)의 위험인자이며 인유두종바이러스의 지속적 감염은 자궁경부의 이형성 병변으로의 이행 가능성이 높음을 암시한다고 하였다.^{31,32} 또한 다중 감염의 빈도가 침윤성 암을 포함한 HGCIN보다 LGCIN에서 높다는 보고가 있었는데 이는 7가지의 저위험형과 15가지의 고위험형의 검색이 가능한 DNA chip (LI PCR)으로 시행한 본 연구에서도 그와 일치한 소견을 보였다.³³ 본 연구에서 각각의 유전형에 있어 침윤성 암을 포함한 HGCIN 이상에서의 빈도는 16, 58, 52, 18형 순이었다. 이는 유럽 등 외국의 보고에 비해 58, 52형이 흔하고 18형은 상대적으로 적은 빈도를 보인 것이다.¹² 동아시아의 여러 보고를 보면, Liaw 등(1997)이 China에서 침윤성 암을 포함한 HGCIN에서 52, 58형 순으로 흔한 것임을 보고하였다.³⁴ 또한 Sasagawa 등(2001)은 일본에서 침윤성 암 환자에서 16, 52, 58형 순의 빈도를 보임을 보고하였다.³⁵ 이것으로 보아 동아시아 지역에서 유럽 등 타 대륙에 비해 자궁경부암 환자에서 인유두종바이러스 52, 58형이 다른 유전형에 비해 흔하게 다중감염 된다고 사료된다.

이상의 결과를 통해 단독 검사로서 하이브리드캡처 II 검사에 비해 HPV DNA chip 검사법이 상대적으로

높은 민감도를 보이고, 세포진 검사와 병행하였을 때 두 검사 모두 90% 이상의 높은 민감도를 보여 위음성을 낮추는 결과를 가져오고, 특이도를 제외한 양성 예측도 및 음성 예측도를 향상시켜 선별 검사로서 유용한 면이 있다고 하겠다. 또한, 단독 감염일 때보다 다중 감염일 때 LGCIN 이상 병변의 발생 빈도가 높다고 하겠다. 그러므로, 이러한 환자군에 있어서 면밀한 추적 관찰을 통한 전향적 연구를 통한 역학적인 연구가 뒷받침되어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Ferlay J, Parkin DM, Pisani P, Globocan. Cancer incidence & mortality worldwide, IARC Cancer Base 3, International Agency for Research on Cancer, Lyon 1998.
2. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of 25 major cancers in 1990. *Int J Cancer* 1999; 80: 827-41.
3. 대한산부인과학회 중앙분과위원회. 한국부인암 등록사업 조사 보고서(1998.1-1998.12.31) 대한산부인과학회지 2001; 44: 426-59.
4. Koss LG. The Papanicolaou test for cervical cancer detection, a triumph and a tragedy. *JAMA* 1989; 261: 737-43.
5. Fetherson WC. False negative cytology in invasive cancer of the cervix. *Clin Obstet Gynecol* 1983; 26: 929-35.
6. Cox JT, Lorincz AT, Schiffman MH. Human papillomavirus testing by hybrid capture appears to be useful in triaging women with a cytologic diagnosis of atypical squamous cells of undetermined significance. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172: 946-54.
7. Cuzick J, Szarewski A, Terry G. Human papillomavirus testing in primary cervical screening. *Lancet* 1995; 345: 1533-7.
8. Reid R, Greenberg MD, Lorincz A. Should cervical cytologic testing be augmented by cervicography or human papillomavirus deoxyribonucleic acid detection? *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 1461-71.
9. Kjaer SK, Brinton LA. Adenocarcinomas of the cervix: the epidemiology of an increasing problem. *Epidemiol Rev* 1993; 15: 486-98.
10. Vizcaino AP, Moreno V, Bosch FX. International trends in the incidence of cervical cancer: I. Adenocarcinoma and adenosquamous cell carcinomas. *Int J Cancer* 1998; 75: 536-45.
11. Lorincz AT, Temple GF, Kurman RJ, Jenson AB, Lancaster WD. Oncogenic association of specific human papillomavirus types with cervical neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1987; 79: 671-7.
12. Bosch FX, Manos MM, Munoz N. International Biological Study in Cervical Cancer Study Group. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796-802.
13. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk association of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 328-37.
14. Van den Brule AJC, Walboomers AJM, Du Maine M. Difference in prevalence of human papillomavirus genotypes in cytologically normal smears is associated with a history of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 1991; 48: 404-8.
15. Zur Hausen H. Molecular pathogenesis of cancer of the cervix and its causation by specific human papillomavirus types. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994; 186: 131-56.
16. Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med* 1992; 327: 1272-8.
17. Gaarenstrom KN, Melkert P, Walboomers JMM. Human papillomavirus DNA genotypes: prognostic factors for progression of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Cancer* 1994; 4: 73-8.
18. Brown, D., Bryan JT, Cramer H, Fife KH. Analysis of human papillomavirus types in exophytic condylomata acuminata by hybrid capture and Southern blot techniques. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2667-73.
19. Brown DR, Rawlings K, Handy V, Fife KH, Bryan JT, Cramer H, Graham M. Human papillomavirus detection by hybrid capture in paired cervicovaginal lavage and cervical biopsy specimens. *J Med Virol* 1996; 48: 210-4.
20. Cavuslu S, Mant C, Starkey WG, Bible JM, Biswas C. Analytic sensitivities of hybrid-capture, consensus and type-specific polymerase chain reactions for the detection of human papillomavirus type 16 DNA. *J Med Virol* 1996; 49: 319-24.
21. Cope JU, Hildesheim A, Schiffman MH, Manos MM. Comparison of the Hybrid Capture tube test and PCR for detection of human papillomavirus DNA in cervical specimens. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2262-5.
22. Nindl I, Zahm DM, Meijer CJ, Walboomers JM, Schneider A. Human papillomavirus detection in high-grade squamous intraepithelial lesions. Comparison of hybrid capture assay with a polymerase chain reaction system. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 23: 161-4.

24. Schiffman M., Kiviat NB, Burk RD, Shah KV. Accuracy and interlaboratory reliability of human papillomavirus DNA testing by hybrid capture. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 545-50.
25. Shah KV, Solomon L, Daniel R, Cohn S, Vlahov D. Comparison of PCR and hybrid capture methods for detection of human papillomavirus in injection drug-using women at high risk of human immunodeficiency virus infection. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 517-9.
26. Sun XW, Ferenzy A, Johnson D, Koulos JP, Lungu O. Evaluation of the hybrid capture human papillomavirus deoxyribonucleic acid detection test. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 1432-7.
27. Clavel C, Masure M, Putaud I, Thomas K. Hybrid capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection. Comparison with hybrid capture I and PCR results in cervical lesions. *J Clin Pathol* 1998; 51: 737-40.
28. Wright TC, Sun XW, Koulos J. Comparison of management algorithms for the evaluation of women with low grade cytologic abnormalities. *Obstet Gynecol* 1995; 85: 202-10.
29. Cox JT, Schiffman MH, Winzelberg AJ, Patterson JM. An evaluation of human papillomavirus testing as part of referral to colposcopy clinics. *Obstet Gynecol* 1992; 80: 389-95.
30. Mc Lachlin CM, Alanen KW, Elit LM, Smith EA, Kerkvliet NA. Hybrid capture human papillomavirus testing as an adjunct to the follow-up of patients with ASCUS and LGSIL Pap smear: A study of a screening population. *Obstet Gynecol Surv* 2000; 55(5): 286-8.
31. Ho GYF, Burk RD, Klein S. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1365-71.
32. Romney SL, Ho GYF, Palan PR. Effects of -carotene and other factors on outcome of cervical dysplasia and human papillomavirus infection. *Gynecol Oncol* 1997; 65: 483-92.
33. Sasagawa T, Basha W, Yamazaki H, Inoue M. High-risk and multiple human papillomavirus infections associated with cervical abnormalities in Japanese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 45-52.
34. Liaw KL, Hsing AW, Schiffman MH, You SL. Human papillomavirus types 52 and 58 are prevalent in cervical cancer from Chinese women. *Int J Cancer* 1997; 73: 775-6.

국문초록

목적 : 현재까지 밝혀진 바에 따르면 인유두종 바이러스는 자궁경부암의 주요 인자로 알려져 있으며 저자들은 현재까지 알려진 검사법 중 하이브리드캡처 II와 최근 각광받고 있는 oligonucleotide microarray법 간의 임상적 유용성을 알아보고 oligonucleotide microarray법을 통해 알 수 있는 인유두종바이러스의 다중 감염과 자궁경부 병변과의 상관 관계를 알아보하고자 하였다.

연구 방법 : 2001년 12월부터 2002년 2월까지 본원에서 하이브리드캡처 II, oligonucleotide microarray법, 세포진 검사를 시행받고, 이후 조직학적 진단을 받은 102명을 대상으로 각각의 검사법에 있어 자궁경부 병변에 대한 민감도, 특이도, 양성 예측도, 음성 예측도 등을 구하여 임상적 유용성을 비교하고자 하였다.

결과 : 저등급 상피내종양(LGCIN) 이상의 경우 하이브리드캡처 II는 민감도 65.7%, 특이도 81.3%, 양성 예측도 88.5%, 음성 예측도 52.0%였고, oligonucleotide microarray법은 민감도 85.9%, 특이도 43.8%, 양성 예측도 77.2%, 음성 예측도 60.9%였다. 고등급 상피내종양(HGCIN) 이상의 경우 하이브리드캡처 II는 민감도 71.7%, 특이도 71.4%, 양성 예측도 73.1%, 음성 예측도 70.0%였고, oligonucleotide microarray법은 민감도 86.8%, 특이도 34.7%, 양성 예측도 58.2%, 음성 예측도 73.9%였다. 두 검사법을 세포진 검사와 병행하였을 경우 특이도를 제외한 민감도, 양성 예측도, 음성 예측도가 향상된 소견을 보였다. 다중 감염일 경우 단독 감염일 때보다 자궁경부 병변의 빈도가 높았다.

결론 : 단독 검사로서 하이브리드캡처 II에 비해 oligonucleotide microarray법이 더 높은 민감도를 보였고, 두 검사법을 세포진 검사와 병행하였을 때 screening performance가 향상된 소견을 보여 선별 검사로서 유용한 면이 있으며, 다중 감염일 때 저등급병변 이상의 발생 빈도가 높아 이에 대한 정밀한 추적 관찰이 요망된다고 하겠다.

중심단어 : 하이브리드캡처 II, HPV DNA chips 검사법, Screening performance, 다중 감염