

HPV 백신 시대에 HPV DNA Chip 검사의 임상효용성 - 1,211에 분석, 단일기관 보고 -

강지민¹ · 이희정²

가톨릭대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 병원병리학교실²

Clinical Efficacy of HPV DNA Chip Test in the Era of HPV Vaccination - 1,211 Cases, A Single Institution Study -

Jimin Kahng, M.D.¹ and Hee-Jeong Lee, M.D.²

Departments of Laboratory Medicine¹, and Hospital Pathology², The Catholic University of Korea College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Human papillomavirus (HPV) prophylactic vaccines, bivalent types for HPV-16/18 with 70% prophylactic expectation, have been developed based on the genotypes found prevalent in the western countries, but little is known for those in Korea. Using a DNA chip test, we evaluated the clinical efficacy of HPV genotype based on cervical abnormalities.

Methods : As the initial diagnostic tests, HPV DNA chip tests and Papanicolaou smear (PAP) were used for 1,211 subjects. Cervical colposcopy directed biopsies were performed for 626 among the 1,211 subjects within one month.

Results : The most frequently found genotypes in all HPV-positive specimens (n=445) were HPV-16 (22.0%), 58 (13.9%), 52 (11.0%), 51 (9.0%), 56 (8.5%), and 18 (7.2%). HPV prevalence was significantly higher in specimens where PAP and biopsy results were closer to malignancy. The HPV genotype distribution of the histologically confirmed cervical high-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) or carcinoma cases showed HPV-16, 58, 52, 18, and 33, in descending order. The HPV DNA chip sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) for the detection of cervical HSIL or carcinoma were 76.9%, 70.1%, 72.1%, and 75.8%, respectively. Of these, the sensitivity and NPV were higher than those of PAP. PPV and NPV of HPV-16 were 90.5% and 60.7%, respectively, being the highest among the genotypes.

Conclusions : We confirmed that HPV-16 genotype was also very important for the diagnosis of HSIL and cervical carcinoma in Korea. However, contrary to the findings in the western countries, the prevalence of HPV-58 was higher than that of HPV-18. Moreover, as the other HPV genotype reports were rare in Korea, further studies are required with the HPV DNA chip test before the nationwide adoption of the vaccines. (*Korean J Lab Med* 2008;28:70-8)

Key Words : Human papillomavirus, Genotypes, DNA chip test, Clinical efficacy

접 수 : 2007년 11월 16일

접수번호 : KJLM2086

수정본접수 : 2007년 12월 17일

게재승인일 : 2007년 12월 20일

교신저자 : 강 지 민

우 420-717 경기도 부천시 원미구 소사동 2

가톨릭대학교 성가병원 진단검사의학과

전화 : 032-340-2208, Fax : 032-340-2219

E-mail : jmkahng@catholic.ac.kr

*본 연구는 가톨릭 대학교 성가병원 2007년도 임상의학연구비의 일부 지원에 의해 이루어진 것임.

서론

자궁경부암은 7-20년의 전암 단계를 거쳐 침윤암으로 진행되어 조기진단이 가능한 기간이 비교적 길고, 병인에 있어서 성행위와 human papillomavirus (HPV)가 필수적인 원인임이 알려지면서[1], 그 선별검사로써 HPV 검사가 주목받게 된 것은 이미

십여 년 전의 일이다. 그러나 국내에서는 아직 HPV 검사는 특수 검사라는 인식을 벗어나지 못하였고 병원에서 짐작할 수 있는 본래의 목적과 달리, 자궁경부 세포진 검사(Papanicolaou, PAP)에서 이상이 있는 경우 보조적인 검사로써 수행되고 있는 실정이다. 검사 수행에 있어서는 대체로 PAP을 시행하고 있는 부서에서 동일 검체로 선택적인 HPV 검사를 시행하고 있어 진단검사의학적 인 접근에 제한점이 되고 있다.

HPV 감염여부를 진단하는 방법으로는 중합효소연쇄반응법(PCR), in situ hybridization, Hybrid-Capture II assay와 보다 최근에 개발된 HPV DNA chip 검사가 소개되어 있다. 이들 중 HPV DNA chip 검사는 22-24종의 HPV 아형 각각에 대한 감염 여부를 확인할 수 있는 장점이 있으며 2004년 7월 한국식품의약품안전청(KFDA)의 공인을 받았으나, 선발주자인 Hybrid-Capture II에 비해 시장점유율이 낮고, 결과적으로 임상적 유용성 등에 대한 연구가 상대적으로 미미한 상태이다.

HPV 고위험 아형들(oncogenic genotypes) 중 HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-45의 빈도순을 보이는 미국과 유럽의 감염양상을 바탕으로 하여[2] 최근 예방 및 치료백신이 개발되었고, HPV-16과 HPV-18의 예방을 목적으로 하는 Cervarix, Gardasil 등은 상용화하였다. 한국의 감염양상은 소수의 보고가 있으나 아형의 빈도순에서 차이를 보이는 등 밝혀진 바가 적다[3-6].

본 연구에서는 2004년 8월부터 2007년 6월까지 3년간 단일 기관(가톨릭대학교 성가병원)에서 HPV DNA chip 검사를 시행한 1,211예에 대하여, PAP 결과 및 조직 검사 결과와 비교하고 자궁경부병변에 따른 HPV 아형의 감염 빈도를 분석함으로써, 아형 정보의 임상적 효용성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2004년 8월부터 2007년 6월까지 가톨릭대학교 성가병원에서 HPV DNA chip 검사를 시행한 환자들 중, 동시에 PAP을 시행하였고, 치료 후 경과추적이 아닌 초기 진단용 검사로 시행하였던 1,211명을 대상으로 하였다. PAP에서 미확정 비정형 편평상피세포(atypical squamous cell of undetermined significance, ASC-US) 이상의 결과를 보이는 경우 1개월 이내에 질 확대경 조준하 생검으로 조직 검사를 시행하는 것을 원칙으로 하였으며, 총 626예에 대해 환자의 동의하에 조직 검사를 시행하였다.

연령 구성은 20세 이하가 11명(0.9%), 21-30세 111명(9.2%), 31-40세 284명(23.5%), 41-50세 533명(44.0%), 51-60

세 193명(16.0%), 61-70세 63명(5.2%), 71세 이상 16명(1.3%)이었다.

PAP 및 조직 검사 결과에 따른 대상군의 구성은 다음과 같았다. PAP에서 정상 및 염증의 소견을 보인 예는 432예(35.7%), ASC-US 525예(43.4%), 저등급편평상피내 병변(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL) 207예(17.1%), 고등급편평상피내 병변(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL) 30예(2.5%), 상피내암(carcinoma in situ, CIS) 6예(0.5%), 침윤성 자궁경부암(invasive carcinoma) 11예(0.9%)로, HSIL 이상의 고위험 병변으로 판독된 예가 47예(3.9%)이었다. PAP에서 정상 및 염증을 보인 432예 중 132예(30.6%), ASC-US를 보인 525예 중 272예(51.8%)에서 조직 검사를 시행하였고, LSIL 207예 중 177예(85.5%), HSIL 30예 중 29예(96.7%), CIS 6예 중 5예(83.3%), 침윤성 자궁경부암 11예 모두에서 조직 검사를 시행하였다.

조직 검사를 시행한 626예 중 정상 및 염증으로 진단된 예는 106예(16.9%), 원반세포증(koilocytosis) 312예(49.8%), 경증 상피내종양(cervical intraepithelial neoplasia 1, CIN 1) 104예(16.6%), 중등도 상피내종양(CIN 2) 25예(4.0%), 고도 상피내종양(CIN 3) 62예(9.9%), 상피내암(CIS) 5예(0.8%), 침윤성 자궁경부암(invasive carcinoma) 12예(1.9%)로, CIN 2 이상의 고위험 병변으로 판독된 예가 104예(16.6%)이었다.

PAP과 조직 검사 결과의 비교, 그리고 각각의 결과에 따른 HPV 양성률 및 아형분포의 비교를 위해 다음과 같이 분류하였다. PAP에서 정상 및 염증 소견을 보인 경우를 'PAP-정상군'으로 분류하고, ASC-US는 'ASC-US군', LSIL로 판독된 경우는 'PAP-LSIL군', 그리고 HSIL과 CIS 및 침윤성 자궁경부암으로 판독된 경우는 'PAP-고위험병변군'으로 분류하였다. 조직 검사에서 정상 및 염증 소견을 보인 경우를 '조직-정상군'으로, 조직검사에서 원반세포증과 CIN 1으로 진단된 경우는 '조직-LSIL군'로 분류하고, CIN 2와 CIN 3 및 CIS, 그리고 침윤성 자궁경부암으로 진단된 경우를 '조직-고위험병변군'으로 분류하였다.

2. 방법

1) PAP 및 HPV DNA chip 검사를 위한 검체 채취

PAP은 cytobrush를 이용한 통상적인 세포진 검사방법으로 시행되었으며, 분류는 The Bethesda System III을 사용하였다[7].

HPV DNA chip 검사용 검체는, 환자의 질에 멸균된 speculum을 삽입하고 검체채취용 HPVDNAChip Sampler (Bio-MedLab Company, Seoul, Korea)에 포함된 cytobrush로 자궁

정부 내구와 외구 주위를 충분히 문질러 자궁경부 세포를 채취하고, cytobrush 자체를 운송용 배지(1x phosphate buffered saline)에 넣어 즉시 검사실로 운송, 냉장 보관하였다.

2) 채취된 자궁경부 세포로부터 DNA 추출 및 증폭

Proteinase K 20 μ L를 미리 넣어둔 1.5 mL microcentrifuge tube에, 1)의 검체용기에서 cytobrush제거 후 충분히 진탕한 검체 400 μ L와 B buffer 200 μ L를 가한 후 60°C에서 10분간 반응시키고, isopropanol 100 μ L 첨가하여 binding column tube (바이오니아, 대진, 한국)를 이용, 여과액을 추출하였다. W1 및 W2 buffer로 2회에 걸쳐 세척한 후 12,000 rpm에서 2분간 원심분리하여 잔여 에탄올을 제거하고, 60°C로 가열한 EL buffer 100 μ L를 넣어 5분간 실온 방치하였다. 8,000 rpm에서 1분간 원심분리하여 추출한 DNA는 곧바로 사용하거나 4°C에 보관하였고, 하루 이상 보관하는 경우 -20°C에 보관하였다.

이후 HPV DNAChip kit (BioMedLab)를 이용하여 제조사의 방법으로 진행하였다. HPV DNAChip kit는 22종의 HPV 아형을 검출할 수 있는 kit로써 고위험군 아형 15종(16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 69)과, 저위험군 아형 7종(6, 11, 34, 40, 42, 43, 44)을 동시에 검출한다. HPV type-specific oligonucleotide probe와 control인 β -globin에 대한 probe를 고정한 후 probe와 반응할 target DNA를 PCR 증폭하여 교잡반응(hybridization) 과정을 거친 후 형광물질로 표지하고, 각 유형의 probe에 결합된 상태를 특정 파장의 형광 검출기를 이용, 검출하였다.

추출된 DNA를 주형으로 하여 HPV DNAChip 키트에서 제공하는 시발체를 이용하여 증폭하였다. 시발체는 HPV primer와 control인 β -globin primer (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 PCO3: 5'-TGC ACC TGA CTC CTG AGG GAA GTC TGC CG-3', β -globin PCO4: 5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CCT TCG CCC AC-3')로 구성되었다. 위에서 추출된 DNA를 PCR tube에 50 μ L 넣어 PCR 시행 전에 99°C에서 10분, 4°C에서 10분간 방치하여 pre-denaturation하였다. 유전자 절편의 증폭을 위한 반응액 조성으로 10 \times PCR buffer (Mg^{2+} free, TaKaRa, Shiga, Japan) 5 μ L, 2.5 mM $MgCl_2$ 8 μ L, Primer I, 25 pM/ μ L, 1 μ L, primer II 25 pM/ μ L, 1 μ L, dNTP 혼합액(2 mM dATP, dTTP, dGTP, 1.0 mM dCTP) 1 μ L, 25 nM Cy5-dUTP 0.1 μ L, taq DNA polymerase (TaKaRa, 5 U/ μ L) 0.4 μ L, template 5 μ L를 포함하여 50 μ L가 되게 하였다. Control 증폭을

위한 반응액 조성으로 10 \times PCR buffer (Mg^{2+} free, TaKaRa) 10 μ L, 2.5 mM $MgCl_2$ 4 μ L, BG I, 25 pM/ μ L, 1 μ L, BG II, 25 pM/ μ L, 1 μ L, dNTP 혼합액(2 mM dATP, dTTP, dGTP, 1.0 mM dCTP) 1 μ L, 25 nM Cy5-dUTP 0.1 μ L, taq DNA polymerase (TaKaRa, 5 U/ μ L) 0.4 μ L, template 5 μ L를 포함하여 50 μ L가 되게 하였다. 준비된 검체를 94°C에서 5분간 초기 변성시키고, 그 이후 94°C에서 1분, 50°C에서 2분, 72°C에서 30초간 수행하기를 5주기 실시 후 다시 94°C에서 1분, 50°C에서 2분, 72°C에서 15초간 35주기를 수행하였다. 마지막으로 72°C에서 2분간 유지시킨 뒤 4°C에서 보관하여 교잡반응에 이용하였다.

3) 교잡반응

2)에서 증폭된 DNA (HPV PCR product 10 μ L, β -globin PCR product 5 μ L, 멸균수 25 μ L)에 DNA 변성용액(3 N NaOH) 4 μ L (1/10 vol.)를 가한 후 실온에서 5분간 방치하였다. 다시 1 M Tris-HCl (pH 7.2) 2 μ L (1/20 vol.)와 DNA 변성용액(3 N HCl) 4 μ L (1/10 vol.)를 가한 후 얼음 위에서 5분간 방치하였다. 12 \times SSPE 50 μ L, 10 % SDS 0.5 μ L를 가하여 잘 섞고, 이를 HPV DNAChip kit (BioMedLab) 내에 포함된 유리 슬라이드 위에 가하여 40°C에서 2시간 동안 적정 습도를 유지하며 반응시킴으로써 반응 형광이 나타나도록 유도하였다. 3 \times SSPE buffer에서 1분간 세척하고 1X SSPE buffer로 2분간 세척한 후 판독하였다.

4) 판독(Chip scanning)

Confocal laser scanner (GenePix 4000B, Laser power-33%, PMT-880, Axon Instrument Inc., CA, USA)를 이용하여 판독하였다.

5) 통계

SAS통계프로그램(The SAS System for Windows V 8.02)을 이용하여 카이제곱검정 및 Fisher의 정확도 검정을 시행하였다. 조직검사 결과와 자궁경부 세포진 검사 결과 및 HPV DNA Chip 검사에 의한 감염여부 및 아형 결과를 비교하고, 조직검사 결과를 표준값으로 하여 자궁경부 세포진 검사와 HPV DNA chip 검사의 민감도(sensitivity), 특이도(specificity), 양성예측도(positive predictive value, PPV) 및 음성예측도(negative predictive value, NPV)를 산출하였다. 신뢰구간(confidence interval, CI)은 95%로 설정하였으며 모든 유의수준은 $P < 0.05$ 로 하였다.

결 과

1. HPV 감염률 및 아형의 분포

총 1,211예 중 HPV DNA chip 검사 결과는 798예에서 음성(65.9%), 413예에서 양성(34.1%)이었다. 음성군과 양성군의 평균연령은 각각 44.6세 및 42.9세로 유의한 차이가 없었다. 양성 413예 중 고위험 HPV 양성을 보인 경우는 369예(89.3%, 1,211예 중 30.5%)이었으며, 이들 중 289예는 단독감염, 80예는 중복감염이었다. 중복감염 80예 중 56예는 2종의 고위험 아형에 의한 중복감염이었고, 8예는 3종, 1예에서는 5종의 고위험 아형에 의한 중복감염이 관찰되었다. 고위험 아형 2종에 의한 중복감염 56예에서 고위험 아형 15종의 가능한 조합들 중 HPV-16, 52에 의한 중복감염이 6예로 가장 많았다. 그 다음으로는 HPV-16, 18 조합과 HPV-16, 58 및 HPV-52, 58에 의한 중복감염이 각각 4예씩 나타났으며, HPV-39, 52에 의한 중복감염이 3예이었다. 고위험 아형 15종이 모두 2종 중복감염을 일으켰으며, HPV-16 (20회), HPV-52와 HPV-58 (각 18회), HPV-56 (9회), HPV-39와 HPV-51 (각 8회), HPV-18과 HPV-59 (각 7회)의 빈도순으로 나타났다. 고위험 아형 3종에 의한 중복감염 8예는 HPV-16, 18, 33, 35, 51, 52, 56, 58, 59, 66의 10종에 의한 중복감염이었으며, 이들 중 HPV-18이 4회, HPV-16, 35, 58이 각각 3회씩, HPV-51, 52, 56, 59, 66이 각각 2회씩, 그리고 HPV-33이 1회 조합된 형태였다. 5종의 고위험 아형에 의한 중복감염은 HPV-16, 18, 35, 39, 56에 의한 감염이었다. 고위험 아형과 저위험 아형의 혼합감염은 총 24예였으며, 15예는 고위험 아형 1종과 저위험 아형의 혼합감염, 6예는 고위험 아형 2종, 3예는 고위험 3종과의 혼합감염이었다. 중복감염을 일으킨 여러 아형을 모두 합산하였을 때 고위험 아형 중 가장 흔하게 나타난

아형은 HPV-16 (98/445, 22.0%), 그리고 HPV-58 (62/445, 13.9%), HPV-52 (49/445, 11.0%), HPV-51 (40/445, 9.0%), HPV-56 (38/445, 8.5%), HPV-18 (32/445, 7.2%)의 순이었다. 저위험 아형에 의한 단독감염은 37예였으며, 가장 흔하게 나타난 아형은 HPV-6 (12/37, %)과 HPV-40 (12/37, %), HPV-34 (5/37, %)의 순이었다. 저위험 아형에 의한 중복감염은 총 5예 관찰되었고, HPV-6과 HPV-40에 의한 중복감염 2예, HPV-40과 HPV-44에 의한 중복감염 2예, 그리고 HPV-6, 40, 44 3종에 의한 중복감염이 1예 있었다.

연령에 따른 HPV 아형분포는 30세를 기준으로 성활동이 활발한 연령군과 그렇지 않은 군으로 나누어 비교하였다(Fig. 1). HPV-16의 양성률(30세 미만 20.5%, 30세 이상 18.3%)은 연령군에 따라 차이가 없었으나($P=0.6373$), HPV-66 (30세 미만 10.3%, 30세 이상 3.3%)은 30세 미만군의 감염률이 30세 이상군의 감염률보다 높고($P=0.0121$), HPV-52 (30세 미만 2.6%,

Table 1. Prevalence of human papillomavirus (high risk groups) according to the results of Papanicolaou smear and biopsy

PAP	Positive cases/ total (%)	Biopsy	Positive cases/ total (%)
PAP-normal	84/432 (19.4)	Biopsy-normal	31/106 (29.3)
ASC-US	142/525 (27.0)		
PAP-LSIL	108/207 (52.2)	Biopsy-LSIL	164/416 (39.4)
PAP-high risk lesion	35/47 (74.5)	Biopsy-high risk lesion	81/104 (77.9)
Total	369/1,211 (30.5)	Total	276/626/ (44.1)

PAP-high risk lesion includes high-grade squamous intraepithelial lesion, carcinoma in situ (CIS), and invasive carcinoma. Biopsy-LSIL includes koilocytosis and cervical intraepithelial neoplasia 1 (CIN 1). Biopsy-high risk lesion includes CIN 2, CIN 3, CIS, and invasive carcinoma.

Statistically significant figures are in bold.

Abbreviations: PAP, Papanicolaou smear; ASC-US, atypical squamous cell of undetermined significance; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion.

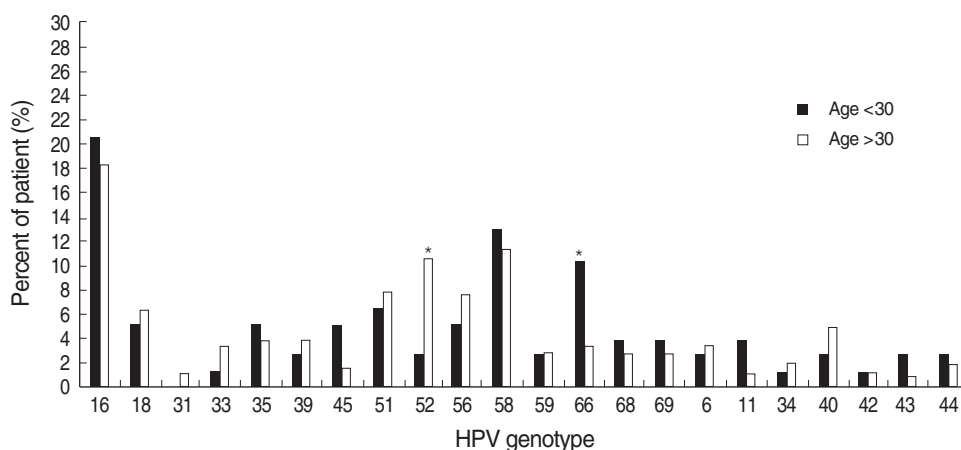


Fig. 1. Percent of patients infected with individual human papillomavirus (HPV) genotypes among age groups. Each type included single and multiple infections.

30세 이상 10.5%)는 30세 이상군의 감염률이 높았다($P=0.0265$).

2. PAP 및 조직 검사 결과에 따른 HPV DNA chip 결과 및 아형 분포

PAP 및 조직 검사 결과에 따른 HPV 고위험 아형의 양성률과 분포는 Table 1-3과 같았다.

1) PAP 결과에 따른 HPV DNA chip 결과 및 아형 분포

PAP-정상군 432예 중 HPV 양성은 84예(19.4%), ASC-US군 525예 중 142예(27.0%), PAP-LSIL군 207예 중 108예(52.2

%), PAP-고위험병변군 47예 중 35예(74.5%)이었다. PAP-정상군에 비해 ASC-US군, PAP-LSIL 및 PAP-고위험병변군의 양성률이 유의하게 높았고($P<0.0001$), ASC-US군보다 PAP-LSIL군의 양성률이 높았으며($P=0.0162$), PAP-LSIL군보다 PAP-고위험병변군의 양성률이 유의하게 높았다($P=0.0054$).

가장 흔하게 나타난 HPV 아형은 모든 군에서 HPV-16으로, PAP-정상군 432예 중 29예(6.7%, 양성 84예 중 34.5%), ASC-US군 525예 중 31예(5.9%, 양성 142예 중 21.8%), PAP-LSIL군 207예 중 26예(12.6%, 양성 108예 중 24.1%), PAP-고위험병변군 47예 중 12예(25.5%, 양성 35예 중 34.3%)를 보여, PAP-정상군과 ASC-US군에 비해 PAP-LSIL군과 PAP-고위험병변군에서 유의하게 높았고($P=0.0012$), PAP-LSIL군보다 PAP-고위험병변군에서 유의하게 높았다($P=0.0244$).

2) 조직 검사 결과에 따른 HPV DNA chip 결과 및 아형 분포

조직 검사를 시행하였던 626예 중 44.1%인 276예에서 양성

Table 2. The distribution of human papillomavirus (HPV) high risk genotypes by HPV DNA chip according to cervical cytology

HPV genotype	N. of patients (% in total cases/% in positive cases)				
	Total	PAP-normal	ASC-US	PAP-LSIL	PAP-high risk lesion
16	98	29 (6.7/34.5)	31 (5.9/21.8)	26 (12.6/24.1)	12 (25.5/34.3)
58	62	21 (4.9/25.0)	23 (4.4/16.2)	10 (4.8/9.3)	8 (17.0/22.9)
52	49	8 (1.9/9.5)	17 (3.3/12.0)	20 (9.7/18.5)	4 (8.5/11.4)
51	40	9 (2.1/10.7)	14 (2.7/9.9)	15 (7.2/13.9)	2 (4.3/5.7)
56	38	7 (1.6/8.3)	14 (2.7/9.9)	16 (7.7/14.8)	1 (2.1/2.9)
18	32	5 (1.2/6.0)	19 (3.6/13.4)	4 (1.9/3.7)	4 (8.5/11.4)

PAP-high risk lesion includes high-grade squamous intraepithelial lesion, carcinoma in situ (CIS), and invasive carcinoma.

Statistically significant figures are in bold ($P<0.05$).

Abbreviations: PAP, Papanicolaou smear; ASC-US, atypical squamous cell of undetermined significance; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion.

Table 3. The distribution of human papillomavirus (HPV) high risk genotypes by HPV DNA chip according to cervical histology

HPV genotype	N. of patients (% in total cases/% in positive cases)			
	Total	Biopsy-normal	Biopsy-LSIL	Biopsy-high risk lesion
16	73	4 (3.8/12.9)	31 (7.5/18.9)	38 (36.5/46.9)
58	42	6 (5.7/19.4)	21 (5.0/12.8)	15 (14.4/18.5)
52	38	5 (4.7/16.1)	23 (9.7/14.0)	10 (9.6/12.3)
51	30	4 (3.8/12.9)	23 (7.2/14.0)	3 (2.9/3.7)
56	28	1 (0.9/3.2)	24 (7.7/14.6)	3 (2.9/3.7)
18	25	0 (0.0/0.0)	16 (1.9/9.8)	9 (8.7/11.1)

Statistically significant figures are in bold ($P<0.05$).

Biopsy-LSIL includes koilocytosis and cervical intraepithelial neoplasia 1 (CIN 1). Biopsy-high risk lesion includes CIN 2, CIN 3, CIS, and invasive carcinoma.

Abbreviation: LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion.

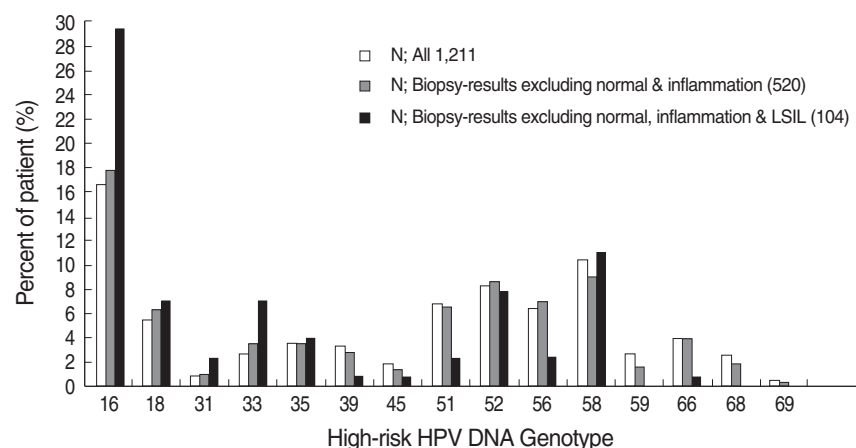


Fig. 2. Distribution of percent of patients infected with the individual high-risk human papillomavirus (HPV) genotypes. Each type included single and multiple infections. HPV-16 was the most prevalent type in HPV-infected women (chi-square test: $P<0.001$). LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion.

Table 4. Comparison of test performances of Papanicolaou smear and human papillomavirus testing by DNA chip for the detection of histologically confirmed high-grade squamous intraepithelial lesion or the worse cases

	Any HPV	HPV-16	HPV-58	HPV-52	HPV-35	HPV-33	PAP
Sensitivity (%)	76.9	36.5	13.5	9.6	4.8	8.7	53.4
Specificity (%)	70.8	96.2	94.3	95.2	96.2	99.1	69.2
PPV (%)	72.1	90.5	70.0	66.7	55.6	90.0	74.6
NPV (%)	75.8	60.7	52.6	51.8	50.8	52.5	46.8

Abbreviations: HPV, human papillomavirus; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

을 보였고, 조직-정상군 106예 중 HPV 양성은 31예(29.3%), 조직-LSIL군 416예 중 164예(39.4%), 조직-고위험병변군 104예 중 81예(77.9%)이었다. 조직-정상군과 조직-LSIL군에 비해 조직-고위험병변군의 양성률이 유의하게 높았고($P<0.0001$), 조직-정상군과 조직-LSIL군의 HPV 양성률은 유의한 차이가 없었다($P=0.0588$).

가장 흔하게 나타난 HPV 아형은 조직-정상군에서는 HPV-58로 106예 중 6예(5.7%, 양성 31예 중 19.4%)이었다. 조직-LSIL군과 조직-고위험병변군에서는 모두 HPV-16으로 각각 416예 중 31예(7.5%, 양성 164예 중 18.9%) 및 104예 중 38예(36.5%, 양성 81예 중 46.9%)를 보였다. HPV-16의 양성률은 조직-정상군에 비해 조직-LSIL군과 조직-고위험병변군에서 유의하게 높았으며($P<0.0001$), 조직-LSIL군보다 조직-고위험병변군에서 유의하게 높았다($P<0.001$). 조직 검사 결과에 따른 HPV 아형의 분포는 Fig. 2와 같았다

3. 민감도, 특이도, 양성예측도 및 음성예측도

조직 검사 결과를 기준으로 한 PAP과 HPV DNA chip검사의 민감도, 특이도, 양성예측도 및 음성예측도는 Table 4와 같았다.

조직-고위험병변군이 PAP-고위험병변군으로 판독된 비율, 즉 PAP의 민감도는 53.4% (신뢰구간 95%, 범위 42.5-64.0%)이었다. 조직-정상군이 PAP-정상군으로 판독된 비율인 특이도는 69.2% (신뢰구간 95%, 범위 54.7-80.9%)이었다. PAP-고위험병변군 중 조직-고위험병변군의 비율, 즉 PAP의 양성예측도는 74.6% (신뢰구간 95%, 범위 61.8-84.4%)이었고, PAP-정상군 중 조직-정상군의 비율인 음성예측도는 46.8% (신뢰구간 95%, 범위 35.4-58.4%)이었다.

조직-고위험병변군에서 HPV 고위험 양성 결과의 보인 비율, 즉 HPV의 민감도는 76.9% (신뢰구간 95%, 범위 67.4-84.4%)이었다. 조직-정상군에서 HPV 고위험 음성의 결과를 보인 비

율인 특이도는 70.8% (신뢰구간 95%, 범위 61.0-79.0%)이었다. HPV HPV 고위험 양성인 예 중 조직-고위험병변군의 비율, 즉 HPV의 양성예측도는 72.1% (신뢰구간 95%, 범위 62.6-80.0%)이었고, HPV 음성인 예 중 조직-정상군의 비율인 음성예측도는 75.8% (신뢰구간 95%, 범위 65.9-83.6%)이었다. HPV 아형들 중에서는 HPV-16의 양성예측도가 90.5%, 음성예측도 60.7%로 가장 높았다.

고 찰

자궁경부암은 세계 여성암 발생빈도에서 2위를 차지하고 전체 여성암의 10-25%를 점유하는 주요한 암으로써, 한국에서도 유방암, 위암과 대장암에 이어 네 번째로 많이 발생하며 매년 약 5천 명 이상의 신환이 발생하는 것으로 보고된다[8].

PAP과 질 확대경 검사는 현존하는 병변에 관한 정보를 제공해주지만 위음성률이 높고, 병변이 없는 경우 앞으로 발생할 위험성을 알기 위한 방법으로는 적합치 않다[9]. Sasieni 등에 따르면 침습성 자궁경부암 환자의 47%가 진단시기로부터 이전 5년 내에 일반적인 선별검사 스케줄에 따라 검사를 받은 과거력을 가지고 있다고 하였으며[10] 지난 수십 년 간의 연구에도 불구하고 진행된 병기의 자궁경부암 환자의 치료에는 별 진전이 없음을 기억할 때, 보다 적극적인 예방의학적 접근방식이 요구됨을 알 수 있다.

HPV 감염과 자궁경부암의 필수적 병인관계가 밝혀진 이후 현재까지 약 200여 종의 HPV 아형들 중 약 15종(HPV-16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 69)이 고위험 아형으로 알려져 있고, HPV-16은 전세계적으로 가장 높은 감염률을 보이는 아형이다. 그 다음의 빈도순위는 대체로 HPV-18이 차지하는 것으로 알려져 있으나 아시아 지역에서는 드물게 HPV-58로 보고되기도 하였다[2]. 한국의 보고자들에서도 가장 높은 감염률을 보이는 아형이 HPV-16인 것에는 대체로 일치를 보이고, 그 다음이 HPV-58 또는 HPV-52로 보고된다[3-5]. 본 연구에서 감염률이 높은 순서는 HPV-16, 58, 52, 51, 56의 순이었고 HPV-18은 6위에 머물러, 특히 HPV-18의 감염률이 다른 보고들에서 보다 낮았다. 한편 이렇게 낮은 감염률에 비해 중복감염에서 HPV-18이 상대적으로 많이 나타난 점은 주목할 만하였으나 해당 예의 수가 적어, 조직 검사 결과와 종합한 임상적 의의를 도출할 수는 없었다. Jung 등은 HPV 감염률이 한국 내에서도 지역적인 차이를 보여 인천과 부산의 감염률이 높으며, HPV-33, 56, 58 등의 아형이 최근 수년 사이 빈번히 검출된다고 하였는데[11], 본 연구의 모집단도 부천의 지역적 특성을 반영할 가능성이 있을 것으로 생각되었다. 서론에서 언급한 바와 같이 HPV 2개형

(bivalent) 및 4가형(quadrivalent) 조합형의 예방백신들이 상용화하여 국내에도 도입되었으나, 이는 HPV-16과 HPV-18의 예방으로 70%의 자궁경부암 예방효과를 목적으로 하는[12] 서구형 백신이라 할 수 있으며, 본 결과로 미루어 본다면 국내에서는 동일한 효과를 기대할 수 없을 것으로 예상된다.

HPV 감염의 위험도를 높이는 데에 있어서 성활동 외에 연령도 중요한 인자로 작용하는데 35세 이하의 연령대에는 활발한 성활동에 의해 HPV 감염이 상대적으로 많이 일어나지만, 대부분의 자궁경부암의 발생 장소인 편평원주 이음부(squamocolumnar junction)의 화생 작용(metaplastic activity)도 왕성하기 때문에 감염의 정도에 비하여 자궁경부암이 적게 발생한다[13, 14]. 본 연구에서는 HPV 양성률이 20대 52.3%, 30대 35.2%, 40대 31.0%, 50대 24.9%이었고, 조직-고위험군의 비율은 20대 28.1%, 30대 18.5%, 40대 14.3%, 50대 9.3%로 나타났다. 이는 오히려 연령이 높을수록 감염률에 비해 조직-고위험군의 비율이 낮은 것을 의미하는데, 병원에 내원한 환자들 중에서도 임상적으로 의심되는 경우에 선택적으로 검사가 시행되었기 때문에 나타난 모집단의 특성이라 판단되었다. 한편 HPV-16의 양성률은 연령대에 따라 크게 차이가 없는 것에 비해, HPV-66은 30세 이상 군에서 양성률이 유의하게 떨어지고 HPV-52는 높아지는 흥미로운 양상을 보였으며, 보다 많은 예를 추적하여 3년 이상 장기간의 추적관찰로 의의를 분석할 필요가 있다고 생각되었다.

PAP 결과와 조직 검사 결과가 악성에 가까울수록 HPV 양성률이 높아지는 것은 거의 모든 보고들에서 동일하며[3-5, 15, 16] 본 연구에서도 PAP-정상군보다 PAP-LSIL군과 PAP-고위험병변군의 HPV 양성률이 높았고, 조직-정상군보다 조직-고위험병변군의 양성률이 높았다. 자궁경부병변에 따라 HPV 아형의 분포면에서도 변화가 있었는데, HPV-16은 PAP 결과 및 조직 검사 결과가 LSIL 그리고 HSIL 이상의 고위험병변으로 국한되어 갈수록 양성률이 현저하게 높아지고 HPV-58과 HPV-18도 유사한 양상을 보였다. 그에 비해 HPV-51과 HPV-56 등은 오히려 고위험병변군에서 양성률이 낮아지는 추이를 나타내어, PAP-고위험병변군에서의 양성률이 PAP-LSIL군에서의 양성률보다 오히려 낮았으며, 조직-고위험병변군에서의 양성률도 조직-LSIL군에서의 양성률보다 낮았다. 결과적으로 감염률의 빈도순위에 있어서도 전체 1,211예에서는 HPV-16, 58, 52, 51, 56, 18의 빈도순을 보이다가, 조직-고위험병변군에서는 HPV-16, 58, 52, 18, 33의 빈도순위를 보였다. 이는 HPV-51과 HPV-56보다 HPV-18의 위험도가 높음을 시사하는데, 이와 같은 HPV-51의 낮은 위험도[3]와 HPV-18의 높은 위험도[4]는 보고된 바와 유사하였다.

HSIL 이상의 병변을 진단하기 위한 PAP의 특이도는 69.2%

로 일반적인 선별검사에서 기대되는 수치보다 낮았는데, 자료의 대상이 PAP을 시행한 모든 환자가 아니라 그 중에서 선택적으로 HPV 검사가 의뢰되었던 환자였기 때문에 단순 수치 비교는 어려울 것으로 생각되었다. 단 PAP과 HPV, 두 가지 검사의 모집단은 같도록 조건이 부여되었으며, HPV DNA chip 검사의 민감도와 특이도, 음성예측도가 PAP에 비해 높았다. 현재 자궁경부암 선별과 HPV 감염에 의한 세포형태학적 변화를 선별하기 위한 검사로 시행되고 있는 PAP의 민감도, 특이도, 음성 및 양성예측도와 비교하여, HPV DNA chip 검사의 민감도, 특이도, 양성 및 음성예측도는 임상적용이 가능한 범위에 속하는 것으로 판단되었다. 특히 아형들 중 HPV-16의 양성예측도와 음성예측도는 An 등의 보고[4]보다 높은 90.5%와 60.7%로 가장 높아, 감염 여부를 확인하는 것이 임상적으로 매우 중요한 정보가 됨을 알 수 있었다.

PAP과 HPV 모두 음성의 결과를 보인 예는 총 331예이었으며 이 중 69예에서 조직검사를 시행하였다. 앞서 언급된 바와 같이 PAP을 시행하는 환자들 중 임상적의 주관적 판단에 따라 HPV 감염여부를 확인할 필요가 있는 임상적 소견인 경우 HPV DNA chip 검사가 의뢰되었는데, 본 69예는 PAP 및 HPV 검사 결과와 임상소견이 부합되지 않는 경우들이었다. 69예 중 28예는 조직검사결과가 정상이었고, 26예는 원발세포증, 6예는 CIN 1, 1예는 CIN 2, 4예는 CIN 3, 2예는 CIS, 2예는 침윤성 자궁경부암의 결과를 나타내어, 두 가지 검사를 모두 시행하여 음성의 결과를 얻은 69예 중 총 9예(13.0%)가 CIN 2이상의 병변을 나타내었다. 일반적으로 PAP 검사의 위음성 결과 중 1/3은 판독의 오류, 나머지 2/3는 시료채취나 슬라이드 제작과정의 문제로 추정되는데[17], 본 연구에서 동일한 시점에 동일한 방법으로 PAP과 HPV DNA chip 검사의 검체를 채취하였음을 고려할 때 검체 채취시의 오류를 배제할 수 없는 것으로 판단되었다.

일반적으로 PAP 검사를 받는 여성의 약 10% 이상이 ASCUS로 판독되며 이들 중 5-10%에서 악성 병변이 확인된다[18]. 본 자료에서는 ASCUS가 전체의 43.4%에 이르렀는데 이 역시 내원하여 PAP을 시행하는 환자들 중 선택적으로 HPV 검사가 의뢰되었기 때문이었다. ASCUS로 판독된 환자들 중 27.0%가 HPV 고위험 양성 결과를 보였는데 이 양성군이 임상적으로 어떤 의미를 갖는가에 대해서는 추후 해당 예에 대해 3년 이상의 추적검사와 분석이 필요할 것으로 생각된다.

자궁경부암 선별검사를 선택하는 기준에 있어서 비용효과적 측면으로는 초기검사의 비용 자체보다 추적검사의 횟수를 줄이는 것이 효과적임이 보고되었으며[19, 20], 자궁경부암 선별을 위한 검사간격이 길거나 정해진 스케줄이 잘 지켜지지 않는 우리나라와

같은 상황에서는 특이도가 높은 PAP보다 민감도가 높은 HPV DNA 검사가 안전하다[15]. HPV DNA 검사들 중에서 현재 시장점유율은 Hybrid-Capture II 법이 가장 높으며 검사법이 비교적 단순하여 운영이 용이한 데에 비해, HPV DNA chip 검사는 숙련된 검사자가 필요하고 검사시간이 상대적으로 오래 걸리는 단점이 있다.

HPV 감염 후 90% 이상의 예가 자정작용에 의해 자연치유되나, 2년 이상의 지속적인 감염을 보이는 경우 HSIL 발병 가능성이 HPV 음성인 경우보다 300배 이상 높은 것으로 추정되는데, 세포형태학적 변화는 감염된 바이러스가 일정량이 되어야 일어나고 변화의 정도는 바이러스의 양을 반영한다고 알려져 있다[21, 22]. 이러한 측면에서 볼 때 HPV DNA Chip 검사의 결정적인 단점은 감염된 바이러스의 정량적 정보를 얻을 수 없다는 것이다. 그러나 아형에 따른 비정상 자궁경부 세포검사의 의미, 지속적인 감염을 보일 때 재검검과 지속감염의 감별, 여러 아형에 의한 중복 감염의 의미, 그리고 본 연구 결과가 시사하는 바와 같이 지역적으로 다양한 아형의 분포 등은, HPV 아형 각각에 대한 정보 없이는 얻을 수 없는 임상적 가치이며, 백신의 범용화를 위한 모델 구축에 필수적인 자료이다. HPV DNA chip 검사가 도입되기 이전에는 한번에 많은 아형 정보를 얻어내기 어려워 축적된 자료가 많지 않으므로, 아형정보와 정량정보를 동시에 얻을 수 있는 검사법이 도입되기 이전까지는 PAP 검사와 더불어 HPV DNA chip 검사를 선별검사로 실시해야 할 것으로 판단된다.

요 약

배경 : 외국의 인유두종바이러스(human papillomavirus, HPV) 감염양상을 바탕으로 70%의 예방효과를 기대하는 HPV-16, 18 2가형 예방 백신이 개발되어 일부 상용화하였으나, 국내의 감염양상에 대해서는 밝혀진 바가 적다. DNA chip 검사법으로 자궁경부 병변에 따른 HPV 아형의 감염 빈도를 분석하여 아형 정보의 임상적 효용성을 알아보고자 하였다.

방법 : 초기진단용 검사로 HPV DNA chip 검사와 자궁경부 세포진검사(PAP)를 시행한 1,211명을 대상으로 하였고 626예는 1개월 이내에 질 확대경 조준하 생검을 시행하였다.

결과 : HPV 양성 총 445건에서 아형의 빈도는 HPV-16 (22.0%), 58 (13.9%), 52 (11.0%), 51 (9.0%), 56 (8.5%), 18 (7.2%)의 순이었다. PAP 및 조직 검사 결과가 악성에 가까울수록 HPV 양성률이 높았으며, 조직학적으로 확인된 고등급편평상피내 병변 및 자궁경부암에서의 아형의 빈도는 HPV-16, 58, 52, 18, 33의 순이었다. 조직학적으로 확인된 고등급편평상피내 병변

및 자궁경부암에 대한 HPV DNA chip의 민감도는 76.9%, 특이도 70.1%, 양성예측도 72.1%, 음성예측도 75.8%로, 이 중 PAP의 민감도나 음성예측도보다 높았다. HPV-16의 양성예측도는 90.5%, 음성예측도 60.7%로 아형들 중 가장 높았다.

결론 : 우리나라에서도 HPV-16은 고등급편평상피내 병변 및 자궁경부암 진단에 매우 중요함을 알 수 있었다. 그러나 이 연구에서는 구미와 달리 HPV-18아형보다 HPV-58아형의 빈도가 높았으며, 국내 HPV 이환율과 아형 분포 연구 보고도 많지 않으므로, 백신의 범용화에 앞서 HPV DNA chip을 이용한 더 많은 연구가 필요하다고 판단되었다.

참고문헌

1. Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. J Natl Cancer Inst 1995;87:796-802.
2. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. Br J Cancer 2003;88:63-73.
3. Hwang HS, Park M, Lee SY, Kwon KH, Pang MG. Distribution and prevalence of human papillomavirus genotypes in routine pap smear of 2,470 Korean women determined by DNA chip. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2004;13:2153-6.
4. An HJ, Cho NH, Lee SY, Kim IH, Lee C, Kim SJ, et al. Correlation of cervical carcinoma and precancerous lesions with human papillomavirus (HPV) genotypes detected with the HPV DNA chip microarray method. Cancer 2003;97:1672-80.
5. Cho NH, An HJ, Jeong JK, Kang S, Kim JW, Kim YT, et al. Genotyping of 22 human papillomavirus types by DNA chip in Korean women: comparison with cytologic diagnosis. Am J Obstet Gynecol 2003;188:56-62.
6. Kim SR, Song SY, Kim DS, Lee JW, Park CS, Bae DS, et al. Evaluation of self-collected pad sampling for the detection of HPV in cervicovaginal secretion. Korean J Pathol 2004;38:258-64.
7. Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. JAMA 2002;287:2114-9.
8. Gynecologic Oncology Committee of the Korean Society of Obstetrics and Gynecology. Annual report of gynecologic cancer registry program in Korean for 2002 (Jan. 1st, 2002-Dec. 31st, 2002). Korean

- J Obstet Gynecol 2004;47:1029-70. (대한산부인과학회 부인종양위원회. 한국 부인암 등록사업 조사보고서(2002.1.1-2002.12.31). 대한산부인과학회지 2004;47:1029-70.)
9. Nanda K, McCrory DC, Myers ER, Bastian LA, Hasselblad V, Hickley JD, et al. Accuracy of the Papanicolaou test in screening for and follow-up of cervical cytologic abnormalities: a systematic review. *Ann Intern Med* 2000;132:810-9.
 10. Sasieni PD, Cuzick J, Lynch-Farmery E. Estimating the efficacy of screening by auditing smear histories of women with and without cervical cancer. The National Co-ordinating Network for Cervical Screening Working Group. *Br J Cancer* 1996;73:1001-5.
 11. Jung WW, Chun T, Sul D, Hwang KW, Kang HS, Lee DJ, et al. Strategies against human papillomavirus infection and cervical cancer. *J Microbiol* 2004;42:255-66.
 12. Franco EL and Harper DM. Vaccination against human papillomavirus infection: a new paradigm in cervical cancer control. *Vaccine* 2005;23:2388-94.
 13. Adam E, Berkova Z, Daxnerova Z, Icenogle J, Reeves WC, Kaufman RH. Papillomavirus detection: demographic and behavioral characteristics influencing the identification of cervical disease. *Am J Obstet Gynecol* 2001;182:257-64.
 14. Burk RD, Kelly P, Feldman J, Bromberg J, Vermund SH, DeHovitz JA, et al. Declining prevalence of cervicovaginal human papillomavirus infection with age is independent of other risk factors. *Sex Transm Dis* 1996;23:333-41.
 15. Kulasingam SL, Hughes JP, Kiviat NB, Mao C, Weiss NS, Kuypers JM, et al. Evaluation of human papillomavirus testing in primary screening for cervical abnormalities: comparison of sensitivity, specificity, and frequency of referral. *JAMA* 2002;288:1749-57.
 16. de Cremoux P, Coste J, Sastre-Garau X, Thioux M, Bouillac C, Labbé S, et al. Efficiency of the hybrid capture 2 HPV DNA test in cervical cancer screening. A study by the French Society of Clinical Cytology. *Am J Clin Pathol* 2003;120:492-9.
 17. Franco EL, Duarte-Franco E, Ferenczy A. Cervical cancer: epidemiology, prevention, and the role of human papillomavirus infection. *CMAJ* 2001;164:1017-25.
 18. Solomon D, Schiffman M, Tarone B; ALTS study group. Comparison of three management strategies for patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:293-9.
 19. Kim JJ, Wright TC, Goldie SJ. Cost-effectiveness of human papillomavirus DNA testing in the United Kingdom, The Netherlands, France, and Italy. *J Natl Cancer Inst* 2005;97:888-95.
 20. Goldie SJ, Kim JJ, Wright TC. Cost-effectiveness of human papillomavirus DNA testing for cervical cancer screening in women aged 30 years or more. *Obstet Gynecol* 2004;103:619-31.
 21. Yitalo N, Sørensen P, Josefsson AM, Magnusson PK, Andersen PK, Pontén J, et al. Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. *Lancet* 2000;355:2179-80.
 22. Elfgrén K, Kalantari M, Moberger B, Hagmar B, Dillner J. A population-based five-year follow-up study of cervical human papillomavirus infection. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:561-7.