

## 자궁경부 상피내종양에서 LEEP 후 Hybrid Capture Assay를 이용한 HPV DNA 추적검사의 효용성에 관한 연구

이화여자대학교 의과대학 산부인과학교실  
박한희 · 문혜성 · 김승철

### The Clinical Efficacy of HPV DNA test by Hybrid Capture Assay after LEEP in Cervical Intraepithelial Neoplasia

Han Moie Park, M.D., Hye Sung Moon, M.D., Seung Cheol Kim, M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, Ewha Womans University, College of Medicine, Seoul, Korea*

**Objective :** This study was undertaken to analyze the relationship between the detection of HPV DNA and the recurrence of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) after Loop Electrosurgical Excisional Procedure (LEEP). Thus We intended to evaluate the clinical effectiveness of HPV DNA test by Hybrid Capture Assay (HCA) as a predictor for the recurrence of CIN after LEEP.

**Methods :** From May 1993 to Dec. 1999, 342 patients who were diagnosed as CIN and treated with LEEP in Department of Obstetrics and Gynecology at Ewha Womans University Mokdong Hospital were reviewed retrospectively. All patients received HPV DNA test only for high-risk group HPV by Hybrid Capture Assay (system I) just before LEEP and were followed up with Pap smears and HPV DNA tests at the interval of 3 months during the first year and then at the interval of 6 months after LEEP. The Chi-square test and Student t-test were used for the statistical analysis.

**Results :** HPV DNA tests before LEEP were positive in 71.3% (244/342). Positivity of HPV DNA after LEEP was 10.9% (35/320) at 3 months, 9.8% (17/173) at 6 months, 7.3% (10/137) at 9 months, and 5.7% (6/105) at 12 months, 5.7% (4/70) at 18 months and 7.5% (3/40) at 24 months. A higher recurrence rate was noted in the HPV DNA positive group, comparing with the negative group, at 3 months (57.1% in positive vs 3.5% in negative;  $p<0.01$ ), at 6 month (64.7% in positive vs 9.5% in negative;  $p<0.01$ ) and at 9 months (70.0% in positive vs 13.3% in negative;  $p<0.01$ ). But there was no more statistical significant difference in recurrence rates between positive group and negative group of HPV DNA tests after 12 months. Also, there were no significant associations between the recurrence of CIN and histopathologic factors such as positive resection margin, endocervical glandular involvements and histologic grades.

**Conclusion :** HPV DNA test by HCA before and after LEEP may be considered as a useful and unique tool for the prediction of recurrence of CIN, especially within 1 year after LEEP.

**Key Words :** CIN, LEEP, HPV DNA test, Hybrid capture assay

자궁경부암은 비교적 조기 진단이 가능하고, 전암 병변이 자궁경부암이 되는데 보통 장기간이 소요되는 것으로 알려져 있다. 지난 수십 년간 침윤성 자궁경부암은 감소하는 경향을 보이는 반면, 전암 병변인 자궁경부 상피내종양(Cervical Intraepithelial Neoplasia, 이하 CIN)은 증가추세를 보이고 있어, CIN의 조기

진단 및 치료에 대한 중요성이 높아지고 있다.<sup>1</sup> 특히 자궁경부암의 주된 원인인자로 알려진 Human Papillomavirus (HPV)는 지금까지 약 120여종이 알려져 있으며 자궁경부암 발생의 위험도에 따라 고위험군, 중간위험군, 저위험군으로 구분되어진다.<sup>2</sup> 자궁경부암의 80%가 4종류의 HPV type-16, 18, 31, 45와 관

련되어 있으며 임상적으로 고위험군과 저위험군의 HPV 감염 모두 자연적으로 소실되는 경우가 많지만, 어떤 경우에 자연적으로 소실되며, 또 언제 소실되는지는 현재로서 정확히 알지 못하고 있다.

CIN은 경도 이형증(cervical intraepithelial neoplasm I: CIN I), 중등도 이형증(CIN II), 고도 이형증 및 상피내암(CIN III)으로 구분된다.<sup>3</sup> 과거 CIN I은 저위험군 HPV 감염에 기인하며, CIN II/III는 고위험군 HPV 감염에 의한 것이라는 것이 정설이었으나, 최근 연구에 의하면 CIN I의 75-85%에서 고위험군 HPV DNA가 검출되며, 저위험군 HPV DNA는 2-25% 정도에서 검출됨이 밝혀졌다.<sup>4</sup> 자궁경부암의 경우에도 저위험군의 HPV DNA가 1000명당 1명 꼴로 검출되는 것으로 알려져 있다.<sup>3</sup> CIN의 발생과 oncogenesis는 고위험군 HPV 감염 여부 및 자궁경부 변형대의 취약성, HPV에 대한 면역반응의 차이에 영향을 받는 것으로 생각된다.<sup>5</sup> 따라서 CIN의 조기 진단과 치료 후 추적 관찰에 있어서 HPV DNA 검사의 중요성이 높아져 실제 임상적으로 널리 이용되고 있다.

CIN의 치료법으로는 전기소작요법(electrocautery), 냉동요법(cryosurgery), 저온응고요법(cold coagulation), 레이저 치료요법(laser vaporization) 등과 같은 국소과피요법(ablative therapy)이나 원추생검술(conization) 및 자궁절제술 등의 수술 요법 등이 이용되고 있다.<sup>6</sup> 그 중 원추절제술은 절제해 낸 검체를 조직학적으로 검사하여 정확한 진단을 내릴 수 있으며, 세포진 검사 혹은 부분적인 자궁경부 조직 검사 보다 진행된 병변을 간파하는 위험을 감소시킬 수 있는 장점이 있어 CIN의 치료로서 널리 쓰이고 있다.<sup>1,2,6</sup> 환상투열요법(Loop Electrosurgical Excisional Procedure, LEEP)은 국소 마취 하에 시행할 수 있으며, 저전압의 최소역을 이용하는, 국소과피요법과 원추생검술의 장점을 동시에 가지는 방법으로 외래에서 시술이 가능하다. 또한 병리학적인 판독에 거의 영향을 미치지 않도록 조직을 절제하여 검사할 수 있는 장점을 지니며, 적절한 loop를 선정하여 시술하면 변형대 전체를 한꺼번에 제거할 수 있어서 1회의 시술로 진단과 치료를 동시에 가능하게 한다.<sup>1</sup> 반면에 LEEP 시행 시 문제점으로 지적되는 것은 변형대 및 병변의 크기가 큰 경우 완전 절제가 되지 않을 수 있으며, 여러 조각으로 절제한 경우 병리 조직 판독 시 병변의 정확한 위치를 판독할 수 없다는 것 등을 들 수 있다.

이러한 자궁의 보존적 치료 이후에 CIN의 재발율은

5-35%로 다양하게 보고되고 있으며,<sup>7,8</sup> 원추절제술 후 잔류 병변의 존재나 재발을 예측할 수 있는 인자에 대한 연구가 보고되었다. 대표적인 인자들로써 나이, 출산력, 흡연, 조직 이형증 정도, 절제면의 침범 여부와 위치, 자궁경관내 소파술, 추적 관찰 시 자궁경부 세포진 검사 등이 보고되고 있고 그 중 절제면의 이형증 정도와 절제면의 침범 여부는 강력한 예측 인자로서 생각되고 있다.<sup>9-12</sup> 그러나 최근에는 절제면 양성임에도 불구하고 전자궁적출술시에 잔류 병변이 없었던 경우가 45-70%까지 보고된 바 있으며,<sup>13-15</sup> 또한 CIN의 발병 연령이 점차 낮아짐에 따라 보존적인 치료의 필요성이 절실했던 만큼 원추 절제술 이후 잔류 병변의 존재 여부나 병변의 재발을 감시할 수 있는 효과적인 검사 방법의 필요성이 높아졌다.

HPV DNA 검사는 HPV 감염과 CIN 및 자궁경부암과의 밀접한 인과 관계가 밝혀진 이후부터 활발한 연구가 되어 왔으며, 현재는 자궁경부암의 선별검사로써 세포진 검사와 병행하여 이용되고 있다. 세포진 검사 단독 시행 시 CIN II/III에 대한 민감도는 58-75%로 보고되고 있으며,<sup>16</sup> 보고자에 따라 세포진 검사와 HPV DNA 검사를 동시에 하는 경우에는 민감도가 62-95%로 향상되는 결과를 보고하였다.<sup>12,17</sup> HPV DNA의 검출을 위해 과거에는 중합효소연쇄반응(PCR: Polymerase Chain Reaction)이 표준검사로 여겨졌으나 현재는 non-radioactive RNA probe를 이용하는 Hybrid Capture System이 주로 쓰이고 있다.<sup>3</sup>

본 연구의 목적은 LEEP 치료 전후로 Hybrid Capture Assay를 이용한 HPV DNA 검사를 시행하여, HPV DNA의 검출과 CIN의 재발 사이의 상관관계를 분석함으로써, 치료 후 CIN의 재발 예측에 있어서 HPV DNA 추적검사의 임상적 효용성을 알아보고자 하였다.

## 연구 대상 및 방법

1993년 5월부터 1999년 12월까지 이대목동병원에서 CIN으로 진단되고 LEEP 치료를 받은 환자를 대상으로 하였다. HPV DNA 검사는 Hybrid Capture System I를 이용하여 고위험군 HPV DNA만을 대상으로 시행하였다. LEEP 치료 후의 추적검사는 세포진 검사와 고위험군 HPV DNA test를 동시에 하거나 혹은 세포진 검사만을 시행하였으며 처음 1년간은 3개월 간격으로, 그 이후부터는 6개월 간격으로 시행하였다. 이러한 추적 관찰 중인 환자 중 세포진 검사와 HPV

DNA 검사를 함께 시행한 342명의 환자를 대상으로 분석하였으며 이중 HPV DNA 양성이거나, 비정상 세포진 검사소견을 보이는 모든 환자는 CIN의 재발을 확진하기 위해 질확대경검사를 시행하였다. 질확대경검사를 통해 CIN이 확인된 환자는 조직검사를 통해 CIN의 재발을 확진하였다.

### 1) 환상투열요법 (Loop Electrosurgical Excisional Procedure, LEEP) 방법

환자의 lithotomy position에서 통증 경감을 위해 치과 마취용 주사기(dental syringe)에 1:100,000 epinephrine과 2% lidocaine이 들어있는 카트리지를 장전하여 자궁 경부에 원형으로 injection하는 방법을 이용하였다. 시술 전 질경으로 자궁 경부를 노출시킨 후, 질확대경검사를 시행하여 병변을 재확인하였다. 그 다음, Lugol 용액을 자궁 경부에 도포하고 병변의 절단부를 확인한 후, 병변의 크기에 알맞은 loop를 선정하였다. 절제방법은 질확대경 소견을 기준으로 자궁 경부 변형대의 완전 절제를 원칙으로 하였으며 최소 자궁경부 변형대의 경계로부터 3 mm 이상, 자궁경부 변형대의 표면 상피로부터 8 mm 이상의 깊이로 자궁 경부를 절제하며, 자궁경부 변형대의 크기가 큰 경우에는 2-3회에 걸쳐 나누어 절제하였다. 그 다음, 심부 자궁내경관 부위(deep endocervical portion)를 한번 더 작은 사각(rectangular) 혹은 원형 loop로 이차 절제를 시행하였다. 절제 후 남아있는 자궁 경부는 ball diathermy를 사용하여 지혈하고 Monsel 용액을 도포하였다. 절제한 조직은 병리과에 의뢰하여 조직학적 진단 및 절제부위의 병변의 침범여부를 확인하였다.

### 2) HPV DNA 검사

HPV DNA 검사는 Hybrid Capture System I을 이용하여 고위험군의 HPV DNA를 검출하는 방법을 이용하였다. 환상투열요법을 시행하기 전 Digene Cervical Sampler의 cervical brush를 이용하여 자궁경부세포를 HPV DNA 보관용 시험관에 수집하여 -20℃에 보관하였다. 변성시킨 단일가닥의 DNA를 혼합된 HPV의 RNA-probe와 hybridization시켜 RNA: DNA hybrid를 만든 후 anti-RNA: DNA hybrid antibody로 coating된 capture tube에 옮겨 반응시켰다. 이후 anti-RNA: DNA-alkaline dioxentane-based chemiluminescent substrate인 alkaline phosphates와 반응하는 Lumiphos 530 (Lumigen Inc, Detroit, Mich) 을 첨가하여, 반응에서 일어난 빛을

DCR-1 luminometer를 이용하여 상대적인 단위(RLU: Relative Light Units)로 측정하였다.

### 3) 통계적 분석

연구 대상에서 치료 전 HPV DNA 발현 유무에 따른 CIN의 재발과 치료 후 추적 검사 시 HPV DNA 발현 유무에 따른 CIN의 재발에 대한 유의성은 student-t test와 chi-square test를 사용하여 검증하였다.  $p < 0.05$  인 경우 통계학적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

조사대상 342명의 연령분포는 21세에서 77세 까지 평균  $40.8 \pm 10.5$  세였으며 30대가 41.4% (147/342)로 가장 많았으며 40대가 31.2% (102/342), 20대가 10.4% (37/342)를 차지하였다. CIN의 분포는 CIN III가 54.4% (186/342)로 가장 많은 빈도를 보였으며 CIN I 이 20.2% (69/342), CIN II는 25.4% (87/342)이었다. LEEP 검체에서 절단부 양성(positive resection margin)과 선침범(glandular involvement) 여부를 조사하여, 절단부 양성은 4.7% (16/342), 절단부 음성은 95.3% (326/342) 이고, 선침범이 관찰되었던 경우는 16.3% (56/342), 선침범이 없었던 경우는 63.5% (217/342), 선침범 여부를 알 수 없었던 경우는 20.2% (69/342)임을 알 수 있었다 (Table 1).

Table 1. Characteristics of Patients

Mean age (year)	40.8±10.5 yrs
Pre-Tx HPV DNA (high risk group)	
Positive	71.3% (244/342)
Negative	28.7% ( 98/342)
Histologic Diagnosis	
CIN I	20.2% ( 69/342)
CIN II	25.4% ( 87/342)
CIN III	54.4% (186/342)
Status of Margin	
Positive	4.7% ( 16/342)
Negative	95.3% (326/342)
Glandular involvement	
Positive	16.3% ( 56/342)
Negative	63.5% (217/342)
Unknown	20.2% ( 69/342)

HPV : Human Papillomavirus.

CIN : Cervical Intraepithelial Neoplasia.

평균 추적 기간은  $10.7 \pm 3.4$  개월이었으며 치료 후 24개월 간의 추적 기간 중 CIN의 전체 재발율은 9.1% (31/342)이었고 LEEP에 의한 진단으로부터 재발까지의 평균 기간은  $10.5 \pm 2.1$  개월이었다(Table 2).

**Table 2.** Follow up of patients

Mean duration of follow up : $10.7 \pm 3.4$ months
Mean duration from diagnosis to recurrence : $10.5 \pm 2.1$ months
Overall recurrence rate : 9.1% (31/342)

치료 전 고위험군 HPV DNA 양성률은 71.3% (244/342)이었으며 HPV DNA 검사를 통한 추적 검사 결과, 치료 후 HPV DNA 양성률은 3개월에는 10.9% (35/320), 6개월에는 9.8% (17/173), 9개월에는 7.3% (10/137), 12개월에는 5.7% (6/105), 18개월에는 5.7% (4/70), 24개월에는 7.5% (3/40)로 감소 양상을 보였다. LEEP 치료 후 HPV DNA의 검출 유무에 따른 CIN의 재발율을 보면, 추적 3개월에 HPV DNA 양성이었던 환자에서는 57.1% (20/35), 6개월에는 64.7% (11/17), 9개월에는 70% (7/10)이었으며 이에 비해 HPV DNA 음성이었던 환자군의 재발율은 추적 3, 6, 9개월에 각각 3.5% (10/285), 9.5% (15/156), 13.3% (17/127)으로 치료 후 9개월까지는 HPV DNA의 검출이 재발율과 유의한 상관관계를 보였으나( $p < 0.05$ ), 12개월 이후에는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다( $p > 0.05$ )(Table 3).

LEEP 치료 전 고위험군 HPV DNA 검출여부와 조

직학적인 요인에 따른 재발율을 비교한 바, 치료 전 HPV DNA 양성이었던 환자군에서 CIN의 전체 재발율은 11.1% (27/244)이었고, 음성이었던 환자군에서는 4.1% (4/98)의 재발율을 보여 치료 전 HPV DNA 양성 환자군에서의 재발율이 치료 전 HPV DNA 음성 환자군에 비해 유의하게 높음을 알 수 있었다( $p = 0.028$ ). 그러나 검체 절단부의 병변(margin involvement), 선침범(glandular involvement), 병변의 조직학적 등급 등은 LEEP 시행 후 CIN의 재발과 유의한 상관관계를 보이지 않았다( $p > 0.05$ )(Table 4).

**Table 4.** Recurrence according to pre-LEEP HPV DNA and Histologic factors

Factor	Recurrence rate	p value
Initial HPV DNA		
Positive	11.1% (27/244)	0.028
Negative	4.1% (4/98)	
Histological Grade		
CIN I	13.0% (9/69)	>0.05
CIN II	11.5% (10/87)	
CIN III	6.5% (12/186)	
Margin		
Positive	6.2% (1/16)	>0.05
Negative	1.5% (5/326)	
Glandular involvement		
Positive	7.1% (4/56)	>0.05
Negative	9.7% (21/217)	
Unknown	11.6% (8/69)	

HPV : Human Papillomavirus.

CIN : Cervical Intraepithelial Neoplasia.

**Table 3.** Chronological recurrence of CIN according to detection of HPV DNA (high risk types) before and after LEEP

Initial	Follow-up month						
	3 <sup>rd</sup>	6 <sup>rd</sup>	9 <sup>rd</sup>	12 <sup>rd</sup>	18 <sup>rd</sup>	24 <sup>rd</sup>	
No. of cases followed with HPV DNA test and Pap smear	342	320	173	137	105	70	40
HPV DNA (+)	71.3%	10.9%	9.8%	7.3%	5.7%	5.7%	7.5%
Recerrence rate							
HPV DNA(+)	11.1% (27/244)	57.1% (20/35)	64.7% (11/17)	70.0% (7/10)	50.0% (3/6)	50.0% (2/4)	33.3% (1/3)
HPV DNA(-)	4.1% (4/98)	3.5% (10/285)	9.5% (15/156)	13.3% (17/127)	18.1% (18/99)	19.6% (13/66)	24.3% (9/37)
<i>p</i> value	0.028	0.000	0.003	0.003	0.276	0.457	0.276

HPV : Human Papillomavirus.

## 고 찰

1980년대 중반 이후부터 Reid 등을 중심으로 자궁경부암의 발생이 HPV 감염과 직접적인 연관성을 갖는다는 주장이 대두되면서,<sup>18</sup> HPV의 oncogenesis 과정에 대한 연구가 활발히 이루어졌다. HPV의 게놈은 이중 나선 DNA 바이러스로 크게 upstream regulatory region (URR), early region (E), late region (L)의 세 부분으로 구성된다. 이 중 early region의 E6, E7이 HPV의 oncogenesis에 중요한 역할을 하는 부분으로 알려져 있으며 E6, E7의 malignant transformation의 능력에 따라 저위험군과 고위험군 HPV로 구분하게 된다.<sup>19</sup> HPV의 E6, E7이 종양억제 유전자인 p53과 pRb와 결합하여 정상적인 세포증식 조절 능력이 상실되고 결과적으로 자궁경부암이 유발된다는 것이 밝혀지면서 자궁경부암뿐만 아니라 전암 단계인 CIN의 조기 진단을 위해 고위험군 HPV DNA의 검출방법이 이용되고 있으며<sup>20</sup> HPV DNA vaccine을 이용한 자궁경부암의 예방에 관한 연구가 현재 진행 중이다.<sup>21</sup> HPV의 분자 생물학적 검사 방법으로는 Southern blot, Dot blot hybridization, In situ hybridization, Hybrid capture system, PCR, In situ PCR 등을 이용할 수 있다. 그러나 시행 과정이 복잡하고 많은 시간과 다량의 DNA가 필요하다는 단점 때문에 본 연구에서는 solution hybridization 방법으로 상품화되어 있는 Hybrid Capture System I (Digene Diagnostics Inc.)를 이용하였다.<sup>22</sup>

CIN이 점차 가임기 여성에서의 발생이 증가하므로 자궁적출술보다는 보존적인 치료로써 전기 소작이나 냉동치료, 레이저 치료요법 등과 같은 자궁경부의 국소 파괴적 치료가 널리 이용되어 왔다. 그러나 이와 같은 국소 파괴적 치료 시에는 자궁경부 침윤암을 간과할 수 있다는 문제점이 발견되어 1990년대에 이르러서 자궁경관의 조직을 얻을 수 있는 원추절제술이 선호되기 시작하였다. 원추절제술의 한 방법인 환상투열요법(Loop Electrosurgical Excisional Procedure, LEEP)은 저전압, 고주파 전류를 이용한 electrosurgery 방법으로써 LEEP 후 절단부 음성인 경우에는 종양의 완전절제를 기대할 수 있고, 외래에서 짧은 시간에 할 수 있으며, 환자의 불편감이나 부작용이 적어 현재 널리 쓰이는 보존적인 방법이기도 하다.<sup>1,2,6,17</sup> 그러나 절단부가 양성 소견을 보일 경우에는 자궁절제술 등의 추가 치료가 필요할 수 있으며, 절단부 음성인 경우에도 CIN의 재발이나 추후에 시행한 자궁절제술에서 잔

류병변이 발견되는 경우가 있으므로 LEEP 후의 추적 관찰은 필수적이라 하겠다.<sup>12,16,17,23</sup> 특히 HPV는 자궁경부암 발생보다 수년 전에 검출이 가능하므로 전암 단계인 CIN에서 진단 및 치료가 가능해짐으로써 자궁경부암의 조기 예방 차원에서 중요한 역할을 할 것으로 판단되며, 현재 LEEP 시술 후 1년간은 3개월마다, 다음 1년간은 6개월마다 자궁경부 세포진 검사와 질 확대경검사 혹은 HPV DNA 검사 등을 시행하여 병변의 지속 및 재발에 대한 추적관찰이 권장되고 있다.<sup>22</sup> Raju 등은 CIN에 대해서 치료 전에 HPV DNA가 검출되었던 환자에서 높은 재발율을 보고하였고,<sup>24</sup> Yutaka 등은 CIN으로 원추 절제술을 시행한 환자 중 치료 전 HPV DNA 양성인 56명의 환자들을 대상으로 추적 검사로써 HPV DNA 검사를 시행하였는데, 치료 후에 HPV DNA 양성인 환자에서 높은 재발율을 보고함으로써 치료 후 HPV DNA의 지속적인 양성 소견이 재발의 중요한 위험 인자임을 주장하였다.<sup>25</sup> 342명의 CIN 환자를 대상으로 한 본 연구에서도 치료 전 고위험군 HPV DNA 양성률이 71.3%로, CIN과 HPV 감염의 관련성을 다시 한번 입증할 수 있었고, 또한 치료 전 HPV DNA 양성인 환자군의 재발율[11.1% (27/244)]이 치료 전 음성인 환자군[4.1% (4/98)]에 비하여 유의하게 높은 결과를 보임으로써 고위험군 HPV 감염이 동반된 CIN에서 LEEP 치료 후 높은 재발율을 보임을 알 수 있었다.

Cox 등의 보고에서는 젊은 여성을 대상으로 중합효소연쇄반응을 이용한 HPV DNA 검사를 시행한 결과 60%에서 양성을 보였으며 그 중 4-6%에서만 HPV 감염에 의한 이차적 세포 이형증이 관찰되었다.<sup>5</sup> 또한 HPV DNA 검사 상 음성으로 되기까지의 평균 기간은 8개월이었고 12개월 후에는 70%에서 HPV DNA 음성을 보였으며 24개월 이후에는 오직 9%만이 HPV DNA 양성인 유지되었음을 보고하였다. 그러나 고위험군 HPV DNA는 임상적으로 자궁경관에 가시적인 병변이 없는 환자의 10% 정도에서만 검출되고, 대부분의 고위험군 HPV 감염은 수개월동안만 지속되는 것이 보통이다. 따라서 대부분의 경도 이형증은 자연적으로 소실되는 것이 대부분이고 오직 일부에서 병변이 지속되거나 고도 이형증으로 진행하며, 고도 이형증의 경우에는 약 10-20%에서 최종적으로 침윤성 자궁경부암으로 진행되는 것으로 알려져 있다.<sup>22</sup> 이러한 차이를 보이는 이유로 개인에 따른 HPV에 대한 면역 반응의 차이로 인한 것이라는 연구 결과가 보고되었으며,<sup>16</sup>

Bosch 등은 HPV DNA의 검출율이 성관계를 시작한 직후인 이십대 초반의 젊은 여성에서 가장 높으며 나이가 증가함에 따라 급격히 감소함을 관찰하고, 이는 면역 억제로 인한 HPV의 가변적인 life cycle을 반영하는 것이라고 주장하였다.<sup>26</sup> CIN에서 암으로의 낮은 진행율에도 불구하고 현재 대부분의 고도 이형증은 원추절제술 및 LEEP 등의 방법으로 제거되고 있는데 이는 소멸하는 병변과 진행되는 병변을 구분할 만한 명확한 기준이 없기 때문이다. 본 연구에서도 LEEP 시행 후 2년까지 약 10% 미만으로 HPV DNA가 지속적으로 검출되는 결과를 보였으며, 현재로서는 병변의 절제 이후에 지속되는 HPV DNA 검출이 잔류 병변의 존재를 의미하는 것인지, 혹은 새로운 HPV 감염에 의한 것인지는 정확히 확인 할 수 없었다. 이를 검증하기 위해 치료 전, 후의 HPV DNA type의 차이나 그로 인한 위험도의 차이 등에 대한 연구가 필요하리라 생각된다. 본 연구에서 시행된 HPV DNA 검사는 고위험군만을 대상으로 하였고 HPV 아형을 고려하지 않은 만큼, 향후 HPV 아형을 측정한다면 지속성 병변과 신생 병변을 구별하는데 도움이 될 것으로 기대된다.

CIN에서의 HPV DNA 검출은 연구에 따라 30-80%로 다양하게 보고되었으며<sup>18-20,22,24</sup> 이미 여러 연구에서 자궁경부의 고위험군 HPV 감염 여부가 LEEP 시행 후 잔류 병변 유무와 연관이 있다는 점을 보고하였으나 CIN의 치료 후 HPV DNA의 지속성에 관한 연구는 아직 부족한 편이다. 본 연구에서도 LEEP 시행 전 HPV DNA 검출율은 71.3%이었으나 LEEP 치료 3개월 후에는 10.9%만이 HPV DNA가 지속되며, 치료 후 2년까지 지속적으로 10% 미만의 HPV DNA 검출율(6개월;9.8%, 9개월;7.3%, 12개월;5.7%, 18개월;5.7%, 24개월;7.5%)을 보이는 것을 관찰할 수 있었다. LEEP 시행 후에 HPV DNA 양성이 지속되는 환자군에서의 재발율(3개월;57.1%, 6개월;64.7%, 9개월;70%)이 HPV DNA 음성인 환자군의 재발율(3개월;3.5%, 6개월;9.5%, 9개월;13.3%)에 비하여 유의하게 높음을 확인할 수 있었다. 즉, 이는 LEEP 시행 후에도 HPV DNA가 잔류하고 있을 수 있으며, 조직학적으로 비정상적인 조직이 제거된 후에 세포진 검사 상 음성이 나오더라도 계속 존재하고 있는 HPV DNA에 의해 다시 재발할 가능성이 있음을 시사하는 것이라 하겠다. 그러므로 재발의 조기 발견을 위해서는 LEEP 시행 후 세포진 검사뿐만 아니라 HPV DNA 검사로 추적 관찰하는 것이 임상적으로 매우 유용할 것으로 판단되며,

LEEP 시행 후 지속적으로 HPV DNA 양성이 관찰되는 환자는 재발의 고위험군으로 선별하여 저위험군에 비해 보다 면밀한 추적 관찰이 필요할 것으로 생각된다. 반대로 저위험군에서는 고위험군에 비해 추적 관찰의 간격을 늘림으로써, CIN의 치료 후 추적 검진 시, 전반적인 진료비용 절감 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

HPV DNA 검사 이전에도 LEEP 시행 후 CIN의 재발을 예측하기 위해 많은 인자들이 거론되었으며 그 중 잔류 병변은 중요한 인자로 여겨져 이를 뒷받침하는 연구 결과가 보고되었다.<sup>12,14,18</sup> Chad 등은 LEEP 시행 후 잔류 병변의 예측인자로서 절단부 양성 여부, 선침범 여부, 자궁경관의 병변의 위치 및 크기 등과 HPV, 특히 고위험군의 HPV 감염 여부를 중요한 요인으로 꼽았다.<sup>27</sup> Sadeghi 등도 잔류 병변의 예측인자로서 병변의 침범 깊이와 크기 등을 제시하였다.<sup>18</sup> 그러나 Moore 등은 원추절제술과 달리 LEEP 시술은 절단부의 지혈을 위해 ball electrode를 사용하므로 자궁 경관 기저부에서보다 더 심부 조직까지 파괴할 수 있어 검체의 절제면의 병변 유무가 바로 잔류 병변을 의미하는 것이 아님을 주장하였다.<sup>12</sup> 또한 Kalogirou 등과 Roman 등도 절단부와 병변의 크기가 잔류 병변의 존재와 유의한 관련이 없음을 보고하였다.<sup>14,28</sup> 이처럼 조직학적인 요인들이 LEEP 시행 후 잔류 병변의 예측인자로서 논란이 되고 있는 가운데, 본 연구에서도 이러한 조직학적인 인자들의 재발 예측 인자로서의 가능성을 알아보고자 하였다. 2년 간 추적 검사기간 중 절단부 양성인 환자에서의 CIN의 재발은 6.2%이었고, 이는 절단부 음성인 환자의 재발율 1.5%에 비하여 유의하게 높지 않았으며 선침범 양성이었던 환자의 재발율은 7.1%로 역시 선침범 음성인 환자의 재발율 9.7%에 비하여 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 또한 병변의 조직학적인 등급에 따른 재발율을 비교한 바, 추적 관찰 2년 내의 CIN I, II, III에 따른 재발율이 각각 13%, 11.5%, 6.5%로 역시 통계적으로 유의한 차이를 볼 수 없었다. Xi 등 및 다른 연구자들의 보고에서 LEEP 시행 후 잔류 병변의 빈도가 절제면 양성인 경우에서는 30-90%, 음성인 경우에는 2-31%의 빈도를 보고하고 있지만,<sup>29</sup> 실제 CIN III의 LEEP 후 재발율은 3.2-13%에 불과한 것을 감안한다면,<sup>30</sup> 본 연구의 결과는 LEEP 시술 후 치유 과정에서 잔류 병변의 60%가 염증반응으로 인하여 자연적으로 소실된다는 보고를 뒷받침한다고 생각된다. 또한 본 연구를 통해 조직학

적인 요인들은 electrosurgery인 LEEP 시행 후 잔류 병변의 예측 인자로서의 역할뿐 아니라, 치료 후 재발의 예측 인자로서도 HPV DNA 검사에 비하여 효용성이 떨어지는 것을 알 수 있었다.

현재로서는 LEEP 시행 후의 CIN의 재발이 잔류 병변에 의한 것인지, 치료 후에도 지속된 HPV 감염에 의한 것인지, 혹은 새로운 HPV 감염에 의한 것인지를 명확하게 구분할 방법은 없으며 LEEP 시행 후 자궁적출술을 시행한 예에서 잔류 병변을 관찰해 보는 것이 대부분이었다.<sup>12</sup> 본 연구에서는 LEEP 시행 후 HPV DNA 검사로 추적 관찰하여, 자궁경부 세포진 검사는 정상이나 HPV DNA 검출이 양성과 음성인 상황에서 재발율의 차이를 비교함으로써, CIN의 재발에 미치는 HPV 감염의 영향을 확인하였다. 또한 본 연구의 결과로부터 LEEP 시행 후 1년 이내의 추적 검사로서 세포진 검사뿐만 아니라 HPV DNA 검사가 매우 효과적이며, 세포진 검사가 정상일 경우에도 지속적인 고위험군 HPV DNA가 검출되는 환자는 선별하여 주의 깊은 추적 관찰이 필요하다고 판단된다.

또한 앞서 언급한 바와 같이, 본 연구에서는 LEEP 시행 후 12개월 미만까지 HPV DNA 양성 여부와 CIN의 재발과 유의한 관련이 있음을 관찰 할 수 있었으나, 12개월 이후에는 HPV DNA 양성과 CIN 재발과의 연관성을 찾을 수 없었다. 이점에 있어서 본 연구에서는 LEEP 시행 후에 추적검사로써 세포진 검사만 시행된 환자의 경우는 연구 대상에서 제외하였고, 24개월 동안 HPV DNA 검사와 세포진 검사가 동시에 실시된 환자들만을 대상으로 하여 연구가 진행되었기 때문에, 추적 관찰 12개월 이후에 연구 대상 환자의 수가 급격히 감소한 점이 추적 관찰 12개월 이후 재발예측을 위한 HPV DNA 검사의 효용성 검증에 제한점으로 생각된다. 현재로서는 CIN의 재발을 조기 발견하기 위하여 LEEP 시행 후 HPV DNA 검사를 언제까지 실시하는 것이 비용-효율 측면에서 유익한지에 대해서는 연구가 부족한 상황이다. 그러나 본 연구에서, LEEP 시행 후 추적 검사 시 HPV DNA 검사가 임상적인 유용성을 유지할 수 있는 추적 기간은 1년 이내임을 알 수 있었다. 향후 LEEP 시행 후 HPV DNA 검사의 적절한 추적 기간에 대한 검증을 위한 대규모 연구가 이루어져야 할 것이며, 현재 시행되고 있는 추적 검사의 시기와 간격에 대해서도 재발의 고위험군과 저위험군에 따른 적절한 guideline의 설정이 필요하다고 생각된다.

## 참고문헌

1. Kim SC, Chung HW. Efficacy of Large Loop Excision of the Transformation Zone (LLETZ) for Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN). Korean J Obstet gynecol 1995; 38: 2097-107.
2. Kim SC, Lee KS, Kim YJ, Chung HW, Ahn JJ. Large Loop Excision of the Transformation Zone (LLETZ) as an Alternative Treatment for Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN). Ewha Med J 1994; 17: 355-61.
3. Koutsky LA for the ALTS group. HPV triage as a management strategy for women with low-grade squamous intraepithelial lesion. J Natl Cancer Inst, 2000 (in press).
4. Diane S, Mark S, Robert T. Comparison of three management strategies of patients with atypical squamous cells of undetermined significance: baseline results from a randomized trial. J Natl Cancer Inst 2001; 93: 293-9.
5. Cox J. Clinical utility of HPV testing. Obstet Gynecol Clin North Am 1996; 23: 811-52.
6. Prendiville WH, Cullimore JR, Norman SU. Large loop excision of the transformation zone (LLETZ). A new method of management for women with cervical intraepithelial neoplasia. Br J Obstet Gynecol 1989; 96: 1054-60.
7. Bistoletti P, Zellbi A, Morenno Lopez J, Hjerpe A. Genital papillomavirus infection after treatment for cervical intraepithelial neoplasia (CIN III) Cancer 1988; 62: 2056-9.
8. Syrjänen K, Mantyjaevi R, Saarikoski S, Vayrynen M, Syrjänen S. Factors associated with progression of cervical human papillomavirus infection into carcinoma in situ during a long term prospective follow up. Br J Obstet Gynecol 1988; 95: 1096-102.
9. Jansen F, Trimbois J, Hermans J, Fleuren G. Persistent cervical intraepithelial neoplasia after incomplete conization: predictive value of clinical and histological parameters. Gynecol Obstet Invest 1994; 37: 27-4.
10. Murta E, Resende A, Souza M, Adad S, Salum R. Importance of surgical margins in conization for cervical intraepithelial neoplasia grade III. Arch Obstet Gynecol 1999; 263: 42-4.
11. Buxton E, Luesley D, Wade T, Jordan J. Residual disease after cone biopsy: completeness of excision and follow up cytology as predictive factors. Obstet Gynecol 1987; 70: 529-32.
12. Moore B, Higgins R, Laurent S, Marroum M, Bellitt P. Predictive factors from cold knife conization for residual cervical intraepithelial neoplasia in subsequent hysterectomy.

- tomy. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173: 361-6.
13. Lopes A, Morgan P, Murdoch J, Piura B, Monghan J. The case for conservative management of incomplete excision of CIN after laser conization. *Gynecol Oncol* 1993; 49: 247-9.
14. Kalogirou D, Antoniou G, Karakitos P, Botsis D, Kalogirou O, Giannikos L. Predictive factors used to justify hysterectomy after loop conization: increasing age and severity of disease. *Eur J Gynaecol Oncol* 1997; 18: 113-6.
15. Phelps J, Ward J, Szigeti J, Bowland C, Mayer A. Cervical cone margins as a predictor for residual dysplasia in post-cone hysterectomy specimens. *Obstet Gynecol* 1994; 84: 128-30.
16. Dagoberto I, Christoper M, Matthew G, William F, Edward R, Russell R. Recurrent of dysplasia after loop electrosurgical excision procedures with long-term follow-up. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 184: 315-1.
17. Murdoch J, Morgan P, Lopes A, Monaghan J. Histological incomplete excision of CIN after Large loop excision of the transformation zone (LLETZ) merits careful follow up, not treatment. *Br J Obstet Gynecol* 1992; 99: 990-3.
18. Sadeghi S, Sadeghi A, Stenley J. Prevalance of dysplasia and cancer of the cervix in a nationwide, planned parenthood population. *Cancer* 1988; 61: 2359-61.
19. Ostor A. Natural history of CIN: a critical review. *Int J Gynecol Pathol* 1993; 12: 186-92.
20. Clavel C, Masure M, Pataud I. Hybrid Capture II, a new sensitive test for human papillomavirus detection. comparison with hybrid capture I and PCR results in cervical lesion. *J Clin Pathol* 1998; 51: 737-40.
21. Herrero R. Rationale and design of the NCI-Costa Rica HPV 16 vaccine trial. *Proceedings of the 2nd International Conference on Cervical Cancer*; 2002 April 11-14; Houston, Texas, USA.
22. Association of Reproductive Health Professionals (USA). *Human Papillomavirus (HPV) and Cervical Cancer*. Washington, DC: The institute; Mar. 2001.
23. Lennart K, Goran W, Frank B, Monica I, Tord A, Joakim D. Regular disappearance of the human papillomavirus genome after conization of cervical dysplasia by carbon dioxide laser. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183: 1238-42.
- Boush F, Manos M, Munoz N. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796-802.
24. Raju K, Henderson E, Trehan A. A study comparing LLETZ and CO<sub>2</sub> laser treatment for cervical intraepithelial neoplasia with and without associated human papillomavirus. *Eur J Gynecol Oncol* 1995; 16: 92-6.
25. Yutaka N, Toshiyuki M, Tsuyoshi A, Koji K. Persistence of human papillomavirus infection after therapeutic conization for CIN3: is it an alarm for disease recurrence? *Gynecol oncol* 2000; 79: 294-9.
26. Boush F, Manos M, Munoz N. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 796-802.
27. Chad L, Susan J, Chander T, Debra B. Predictors of recurrent dysplasia after a cervical loop electrocautery excision procedure for CIN-3: a study of margin, endocervical gland, and quadrant involvement. *Mod Pathol* 1999; 12: 233-8.
28. Roman L, Felix J, Munderspach L, Aghjanian A, Qian D, Morrow C. Risk of residual invasive disease in women with microinvasive squamous cancer in a conization specimen. *Obstet Gynecol* 1997; 90: 759-64.
29. Xi L, Koutsky L, Galloway D, Kuypers J, Hughes J, Mielzynska I, et al. Genomic variation of human papillomavirus type16 and risk for high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 796-802.
30. F. Recio, B.Sahai, C. Wong, R. Hempling, G Eltabbakh, M. Piver. The clinical value of digene hybrid capture HPV DNA testing in a referral-based population with abnormal pap smears. *Eur J Gynaec Oncol* 1998; 33: 203-8.



## 국문초록

**목적 :** LEEP 치료 전후로 Hybrid Capture Assay를 이용한 HPV DNA 검사를 시행하여, HPV DNA의 검출과 CIN의 재발 사이의 상관관계를 분석함으로써, 치료 후 CIN의 재발을 예측하기 위한 HPV DNA 추적검사의 임상적인 효용성을 알아보고자 하였다.

**연구 방법 :** 1993년 5월부터 1999년 12월까지 CIN으로 진단되었으며 LEEP 치료를 받은 342명의 환자를 대상으로 하였다. HPV DNA 검사는 Hybrid Capture System I을 이용하여 고위험군만을 시행하였다. LEEP 시행 후의 추적 검사는 세포진 검사와 고위험군 HPV DNA 검사를 동시에 하거나 혹은 세포진 검사만을 시행하였으며, 처음 1년간은 3개월 간격으로, 그 이후부터는 6개월 간격으로 시행하였다. 이중 HPV DNA 양성이거나 비정상 세포진 검사소견을 보이는 모든 환자는 CIN의 재발을 확인하기 위해 질확대경검사를 시행하였다.

**결과 :** LEEP 전 HPV DNA 양성률은 71.3% (244/342)이었으며 LEEP 시행 후 추적 3개월에 HPV DNA 양성률은 10.9% (35/320), 6개월에는 9.8% (17/173), 9개월에는 7.3% (10/137), 12개월에는 5.7% (6/105), 18개월에는 5.7% (4/70), 24개월에는 7.5% (3/40)를 보였다. 추적 검사를 통해 HPV DNA가 양성인 환자와 음성인 환자에서의 재발율을 비교하였다. 추적 3개월에는(57.1% in positive vs 3.5% in negative;  $p<0.01$ ), 6개월에는(64.7% in positive vs 9.5% in negative;  $p<0.01$ ), 9개월에는(70.0% in positive vs 13.3% in negative;  $p<0.01$ ) 보였으나, 추적 검사 12개월 이후에는 HPV DNA 양성군과 음성군 사이에서의 재발율에는 유의한 차이가 없었다. 또한 절단부의 양성률과 선침범 여부나 조직학적인 등급 등의 조직병리학적 인자와 CIN의 재발과는 관련이 없음을 알 수 있었다.

**결론 :** Hybrid Capture Assay를 이용한 HPV DNA 검사는 CIN의 재발을 예측하는데 유용하며 특히 LEEP 시행 후 1년 내에 더욱 유용한 것으로 생각된다.

**중심단어 :** CIN, LEEP, HPV DNA 검사, Hybrid Capture Assay