

자궁경부암 선별검진을 위한 세포진 검사와 인유두종바이러스 검사의 임상적 유용성

조선대학교 산부인과학교실
안태규 · 이 경 · 김동원 · 한세준

A Clinical Effectiveness of Cytology and HPV DNA test (Hybrid capture I) in Cervical Cancer Screening

Tae-Gyu Ahn, M.D., Kyoung Lee, M.D., Dong-Won Kim, M.D., Sei-Jun Han, M.D.
Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Chosun University, Gwangju, Korea

Objective : The purpose of this study was to find out the efficacy of cytology and HPV DNA test (Hybrid capture I) in early diagnosis of cervical cancer.

Methods : This study included 1028 patients who visited the Department of Obstetrics and Gynecology, Cho-sun University Hospital From December 1, 1995 to March 31, 1998. And we chose 305 samples who underwent biopsies among taking the cytology and HPV DNA test. All women simultaneously underwent an exo- and endo-cervical smear.

Results : 1. The sensitivity and specificity of cytology were 63.0% and 88.1%, respectively.

2. The positive predictive value and negative predictive value of cytology were 89.7% and 59.3%, respectively.

3. The sensitivity and specificity of HPV DNA test were 51.9% and 85.3%, respectively.

4. The positive predictive value and negative predictive value of HPV DNA test were 85.2% and 52.1%, respectively.

5. When HPV DNA test and Papanicolaou smear were combined, the sensitivity and specificity were 76.9% and 76.9%, respectively. However, the specificity of the combined test with HPV DNA test and Papanicolaou smear was lower than Papanicolaou smear alone.

Conclusion : The sensitivity of cervical cytology was markedly improved by combination with HPV DNA test. So, the combined test could improve the high false negativity of cervical cytology, if the effectiveness is confirmed by mass screening study.

Key Words : Cervical cancer, HPV DNA test, Cytology

서 론

역학적 조사에 의하면 현재 자궁경부암 발생에 관해서는 성적 접촉성 감염 질환 모델이 가장 널리 인정되고 있으나 조기에 시작된 성적 활동, 다수의 성교상대자, 남성요인, 인유두종 바이러스(human papillomavirus; HPV) 감염, 인면역 결핍 바이러스(human immunodeficiency virus)감염 등이 자궁경부암 발생의 위험 요인으로 알려져 있다.¹

사마귀라 불리는 유두종(papilloma, wart)의 병인이 바이러스라는 사실은 20세기 초반부터 알려져 왔으며,

1930년대에는 HPV와 악성 종양과의 연관을 지을 수 있게 되었다. Papovirus계열에 속하는 HPV는 72개의 Capsomer로 이루어진 20면체로서 7900염기의 이중 원형 DNA로 이루어진 작은 virus로서 70여종 이상의 다른 아형(subtype)이 발견되었으며, 병소의 위치와 병변의 진행정도에 따라 각각 특이한 아형이 발견되었다.

자궁경부암의 선별검사로써 통상적으로 사용되는 자궁경부암 세포진 검사는 간편하고 경제적이지만, 자궁경부 탈락세포(exfoliated cell)의 부적절한 채취 및 부정확한 판독으로 심지어 6-55%까지의 위음성율이 보고되어 있으므로,²⁻⁸ 이런 단점을 보완하기 위하여

자궁경부암을 유발시키는 HPV의 진단을 추가로 이용하면 자궁경부암의 발생가능성이 예측 가능하리라 생각된다.⁹

저자들은 자궁경부암 진단에 있어서 세포진 검사와 hybrid capture system I을 이용한 HPV 감염검사의 효용성에 대해 연구를 시행하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

1995년 12월 1일부터 1998년 3월 31일까지 3년간 조선대학교 산부인과에 내원하여 세포진검사와 HPV DNA 검사를 동시에 시행한 환자 1028명 중 질확대경을 통한 조직생검 및 수술을 시행하여 병리조직학적 진단결과를 비교할 수 있는 환자 305명을 대상으로 본 연구를 시행하였다. 환자 평균 연령은 35세(20~70세)였다.

2. 방법

1) 자궁 경부의 세포진 검사.

모든 환자의 자궁경 내막(endocervix)을 cytobrush로 360°로 3번 원을 그리듯 회전시켜 세포를 채취하고 Ayre spatula로 나머지 변형이행대를 긁어서 세포진 검사물을 모아 95% 에탄올액에 고정하였다.¹⁰⁻¹³

2) Hybrid Capture I system 검사법

Vira PAP™ (Digene®)을 이용한 HPV 검색과정을 요약하면, dacron swab을 이용하여 자궁경부세포를 수집하여 collection kit에 넣었다가 분석 때까지 -20℃에서 보관하였다. 수집된 자궁경부 세포를 단백질을 분해효소로 37℃에서 1시간 동안 소화시키고 DNA를 변형시킨 뒤 viraPAP filter manifold를 이용하여 nylon

membrane에 DNA를 흡착시켜 HPV의 RNA 탐식자와 잡종교잡(hybridization)시키고 이 반응 혼합물을 RNA/DNA hybrid에 대한 antibody로 coating된 tube에 옮긴다. 이와 같은 RNA/DNA Hybrid-antibody 결합은 이에 대한 alkaline phosphate-conjugated antibody와 반응시킨 후 세척하고, 이들과 dioxetane-based chemiluminiscent substrate인 alkaline phosphatase와 반응하는 Lumi-Phospho 530을 첨가하여, 반응에서 일어난 빛을 luminometer로 측정하여 반응 상대적인 단위로 나타내었다. 모든 시료의 상대적인 빛의 단위는 양성대조군에 대한 상대적인 밝기로 정하고, 이 비율이 1.0 이상이면 HPV DNA 양성, 1.0 미만이면 HPV DNA 음성으로 판단하였다.

3) 통계 분석

통계적 분석방법은 카이 제곱검정(Chi-square test)을 실시하여 반복 세포진 검사와 HPV DNA 검사 및 조직검사 결과와의 통계적 관련성을 보았다.

결 과

1. 자궁 경부 세포진 검사의 최종 병리조직학적 결과

자궁 경부 세포진 검사상 ASCUS (Atypical Squamous Cell of Undetermined Significance)로 판독된 39예는 분류의 모호성으로 인하여 통계적 처리에서 제외하였고 자궁 경부 세포진 검사 및 조직 검사상 Normal, Benign reactive change, Inflammation은 negative로 정의하고, Low grade squamous intraepithelial lesion(이하 LGSIL), High grade squamous intraepithelial lesion(이하 HGSIL), Malignancy를 positive로 정의하였다 (Table 1).

Table 1. Histologic results of cytology

Cytology	Histologic Diagnosis				Total (n=266)
	†Negative	LGSIL	HGSIL	Cancer	
* Negative	89 (59.3%)	27 (18.0%)	16 (10.7%)	18 (12.0%)	150 (100%)
* Positive	12 (10.3%)	15 (12.9%)	34 (29.3%)	55 (47.5%)	116 (100%)

* Negative: Normal, Benign reactive change

†Negative: Normal, Metaplasia, Inflammation

*Positive: LGSIL, HGSIL, Malignancy

PS: Those cases of ASCUS were excluded (n=39).

Table 2. Histologic results of HPV DNA test

HPV DNA test	Histologic Diagnosis				Total (n=305)
	[†] Negative	LGSIL	HGSIL	Cancer	
* Positive	17 (14.8%)	11 (9.6%)	38 (33.0%)	49 (42.6%)	115 (100%)
Negative	99 (52.1%)	37 (19.5%)	27 (14.2%)	27 (14.2%)	190 (100%)

* Positive: HPV(+)

[†]Negative: normal, metaplasia, inflammation, infection

자궁 경부 세포진 검사의 민감도는 63.0%, 특이도는 88.1%, 양성 예측도는 89.7%, 음성 예측도는 59.3%를 보였다.

2. HPV DNA 검사의 최종 병리조직학적 결과

HPV DNA 검사는 Hybrid capture system을 이용하여 반응유무에 따라 판독되었으며, 조직생검의 결과는 상기와 동일하게 분류되었다(Table 2).

HPV DNA 검사의 민감도는 51.9%, 특이도는 85.3%, 양성 예측도는 85.2%, 음성 예측도는 52.1%를 보였다.

Table 3. Histologic results of combined tests with cytology and HPV DNA tests

Cytology + HPV DNA test	Histologic Diagnosis		Total (n=277)
	[†] WNL	[‡] Abnormal	
* Negative	80 (66.7%)	40 (33.3%)	120 (100%)
**Positive	24 (15.3%)	133 (84.7%)	157 (100%)

* Negative: HPV DNA Test(-) and Cytologic findings (Normal, Benign reactive change)

**Positive: HPV DNA Test(+) or Cytologic findings (LGSIL, HGSIL, malignancy)

[†]WNL: normal, metaplasia, inflammation[‡]Abnormal: LGSIL, HGSIL, malignancy

PS: Those cases of ASCUS and HPV DNA test(-) were excluded (n=28).

3. 이종병합 검진(자궁 경부 세포진 검사, HPV DNA 검사)의 최종 병리조직학적 결과

자궁 경부 세포진 검사상 LGSIL, HGSIL, malignancy로 나온 경우 또는 HPV DNA 검사상 positive인 경우를 이종병합 검진의 positive로 정의하고 자궁 경부 세포진 검사상 normal, benign reactive change이고 HPV DNA 검사상 negative인 경우를 이종병합 검진의 negative로 분류하였다. 단 자궁 경부 세포진 검사상 ASCUS이면서 HPV DNA 검사상 negative인 경우 28예는 대상에서 제외하였다. 조직생검의 결과는 상기와 동일하게 분류되었다(Table 3).

이 검사법의 민감도는 76.9%, 특이도는 76.9%, 양성 예측도는 84.7%, 음성 예측도는 66.7%를 보였다.

4. 자궁 경부 세포진 검사, HPV DNA 검사, 이종 병합 검진법의 정확도 비교

민감도는 이종병합 검진이 가장 높았고(76.9%), HPV DNA 검사가 가장 낮게(51.9%) 나타났다. 특이도는 자궁 경부 세포진 검사가 88.1%로 가장 높았고 이종병합 검진이 76.9%로 가장 낮았으나 타 검진법과 비교할 때 현저한 차이는 없었다(Table 4).

Table 4. Comparison of cytology, HPV DNA test, and combined test (cytology + HPV DNA test)

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	False Positive	False Negative
Cytology	63.0%	88.1%	89.7%	59.3%	11.9%	37.0%
HPV DNA	51.9%	85.3%	85.2%	52.1%	14.7%	48.1%
Cytology + HPV DNA test	76.9%	76.9%	84.7%	66.7%	23.1%	23.1%

PPV: positive predictive value

NPV: negative predictive value

고 찰

자궁경부암은 우리나라에서 전체 여성암의 22%에 달하는 질환이며, 이는 전암성 병변에서 장기간에 걸쳐 침윤암으로 진행하므로 전암병변에 적절한 치료를 하면 예방이 가능한 질환이다.

1980년대 이후 분자 생물학적 방법의 발달로 HPV 감염이 자궁경부암 발생의 주요 원인으로 밝혀지고 있으며, HPV의 아형에 따라 그들의 암화 능력은 차이가 있다.^{14,16} HPV -16, -18 등은 초기 병변에서도 발견되지만 자궁경부 상피내암과 자궁경부암을 유발시키는 고 위험군 바이러스로 알려지고 있으며, HPV-6, -11, -42, -43, -44 등은 콘딜로마나 초기 자궁경부 상피의 이형성증을 유발시키는 저위험군 바이러스이고, HPV -31, -33, -35, -39, -45, -51, -52, -56, -58 등은 중등도 위험군 바이러스로 알려지고 있다.^{14,17,18}

자궁경부암 전구 병소의 일차적인 검사로 널리 알려져 있는 세포진검사의 단점인 높은 위음성률을⁷ 보완하기 위하여 도입된 Bethesda System에서는 종래의 형태학적 구분에 의한 Cervical Intraepithelial Neoplasia 분류법을 HPV 감염과 연관된 생물학적 개념 및 진단과 치료를 염두에 둔 임상적 의미를 도입하여 자궁경부병변을 나누었다. 즉 자궁 경부의 병변을 상이한 조직학적 소견과 DNA ploidy를 나타내는 저위험군 상피내 병변(LGSIL)과 고위험군 상피내 병변(HGSIL)의 두 군으로 나누었다.

자궁경부암의 진단은 최소 6개월에서 1년의 간격으로 자궁경부 도말 세포진(Pap smear), 질확대경진(colposcopy), 자궁경부 확대사진술(cervicography)과 생검(punch biopsy)을 통한 조직병리학적 방법으로 HPV 감염 및 이형세포(dysplastic cell)를 확인하여 자궁경부암의 조기 발견을 하게 된다.

HPV 감염의 세포학적 진단시는 koilocytosis와 dyskeratosis가 특징적으로 나타나는데, hyperchromatic 한 비정형핵, 큰 공동을 함유한 koilocyte(일명 halo cell)와 세포질의 각질화가 있는 dyskeratotic cell를 관찰할 수 있다.

최근 HPV 진단에 많이 이용되는 분자생물학적 방법에는 Southern hybridization, dot blot hybridization, in situ hybridization 등이 있다.

Hybrid Capture Test는 자궁경부 도말세포에서 추출한 DNA로부터 chemiluminescent detection을 이용한 sandwich capture, molecular hybridization 방법에 근

거하여 HPV DNA를 발견하는 단순한 방법으로 방사성 동위원소를 사용하지 않으면서도 Southern hybridization과 비교하여 그 일치도가 90%에 이른다고 한다.¹⁹ 이 방법은 RNA-DNA Hybrid에 대한 1차 면역항체를 개발하여 시험관에 부착시킨 후 RNA-DNA hybrid에 2차 면역항체를 부착시켜서 나타나는 양성반응을 상대적인 양으로 표시하는 방법으로 24시간 내에 결과를 볼 수 있고, 일반실험실에서도 시행할 수 있다.

이 방법은 HPV의 종류에 따른 존재유무 뿐만 아니라, 정상 대조군에 대한 상대적인 수치로 HPV DNA의 정량적인 측정이 가능하여 병소의 범위와 진행을 예측하는 데에도 도움을 준다.^{20,21}

48명의 LGSIL 환자를 3-24개월간 관찰하여 HPV-16/18이 발견된 24명 중 5명이 HGSIL로 진행되었으며, HPV-6/11이 있었던 12명의 환자 중에서는 아무도 HGSIL로 진행하지 않았다는 보고를 고려하면, LGSIL의 세포진 결과를 가진 환자의 예후추정에도 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다.^{22,23}

또한 CIN I 환자의 26%가 10-18개월 후 CIN III로 진행하였으며 이 경우 HPV-16이 발견된 경우는 85%였다는 보고를 고려할 때 고위험군 바이러스의 유무를 파악하는 것은 세포진검사 결과 정상이거나 ASCUS, LGSIL을 보이는 여성에서 CIN이나 자궁경부암으로 진행될 위험성이 증가되어 있는 여성의 구분에 유용하게 쓰일 것으로 생각된다.^{24,26}

최근의 연구 보고에 의하면 HPV mix viral testing으로 High grade CIN를 진단할 수 있는 예민도는 70-85%라고 하였고, 세포진 검사만으로 질환을 진단할 수 있는 예민도는 68%인데, 세포진 검사와 HPV DNA 검사를 같이 했을 때에는 89%로 증가된다고 했다.²⁷

분자생물학적 진단법에 의한 HPV 감염여부의 확인과 HPV아형의 검색을 세포진과 질확대경 진단법과 함께 자궁경부암 조기진단법의 보조방법으로 활용하면 자궁경부의 초기 병변환자의 치료기준을 설정할 수 있는 임상진단법으로 병태생리기전을 연구하고 이해하는 데에 더욱 이바지할 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Jones III HW. Cervical intrepithelial neoplasia. In: Jones III HW, Wentz AC, Burnett LS, editors. Novak's Textbook of Gynecology 11th ed. Baltimore: Williams

- & Wilkins; 1988. p.643-78.
2. Soost HJ, Lange JH, Lehmacheer W, Kullman BR. The Validation of Cervical Cytology-Sensitivity, Specificity and Predictive values. *Acta Cytol* 1991; 35(1): 8.
 3. Sherman ME, Mango LJ, Kelly D, Paull G, Ludin V, Copeland C, et al. PAPNET Analysis of Reportedly negative smears preceding the diagnosis of a high-grade squamous intraepithelial lesion or carcinoma. *Mod Pathol(United States)* 1994; 7(5): 578-81.
 4. Orr JW JR, Shingleton HM. Screening In: *Cancer of the Cervix*. Philadelphia: JB Lippincott company; 1995. p17-35.
 5. Shingleton HM, Patrick RM, Johnston WW, Smith RA. The current status of the Papanicolaou smear. *CA Cancer J Clin* 1995; 45: 305.
 6. Coppelson LW, Brown B. Estimation of the screening error rate from observed detection rates in repeated cervical cytology. *Am J Obstet Gynecol* 1974; 70: 125-8.
 7. Fetherston WC. False negative cytology in invasive cancer of the cervix. *Clinic Obstet Gynecol* 1983; 26: 929-35.
 8. Maggi R, Zannoni E, grorda G. Comparison of repeat smear, colposcopy and colposcopically directed biopsy in the evaluation of mildly abnormal smear. *Gynecol Oncol* 1989; 35: 294 -301.
 9. Adcock LL, Julian TM, Lkagaki T, Tones TK, Prem KA, Twiggs LB, et al. Carcinoma of the uterine cervix FIGO stage I-B. *Gynecol Oncol* 1982; 14: 199.
 10. Alons-van Kordelarr J, Boon ME. Diagnostic accuracy of squamous cervical lesions studied in spatula-cytobrush smears. *Acta Cytologica* 1988; 32: 801.
 11. Reissman SE. Comparison of two Papanicolaou smear techniques in a family practice setting. *J Fam pract* 1988; 26: 525.
 12. Boon ME, de Graaff Guilloud JC, Rietveld WJ. Analysis of five sampling method for the preparation of cervical smears. *Acta Cytologica* 1989; 33: 843.
 13. McCord ML, Stovall TG, Meric JL, Summitt RL, Coleman SA. Cervical Cytology. A randomized comparison of four sampling methods. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166L: 1772.
 14. zur Hausen H. Papillomaviruses in anogenital cancer as a model to understanding the role of viruses in human cancers. *Cancer Res* 1989; 49: 4677.
 15. Brinton LA. Epidemiology of cervical Cancer-overview. In: *The Epidemiology of cervical Cancer-overview*. In: Munoz N, Bosch FX, Shah KV, Meheus A, editors. *The Epidemiology of Human papillomavirus and cervical cancer*. Oxford University Press; 1992. p.3-23.
 16. Galloway DA, McDougall JK. Human papillomaviruses and carcinomas. *Adv virus Res* 1989; 37: 125-71.
 17. Werness BA, Levine JJ, Howley PM. Association of human papillomavirus type 16 and 18 E6 proteins with P5. *Science* 1990; 248: 69-76.
 18. Durst M, Kleinheinz A, Hotz M. The physical state of human papillomavirus type 16 DNA in benign and malignant tumors. *J Gen virol* 1987; 84: 1070-4.
 19. Impramin C. Abstract presented at 92nd General meeting of the American Society of Microbiology. 1992.
 20. Ho GY, Burk RD, Klen S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent Cervical Dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1365.
 21. 박종섭, 남궁성은. HPV DNA Test의 임상적 효용성. *대한산부회지* 1996; 39: 457.
 22. Schneider A, Sawada E, Gissmann L, Shah K. Human papillomaviruses in women with a history of abnormal papnicolaou smears and in their male partners. *Obstet Gynecol* 1987; 69: 554.
 23. Kiviat NB, Koutsky LA, Critchlow CW, Galloway DA, Vernon DA, Peterson ML. Comparison of Southern transfer Hybridization for detection If cervical human papillomavirus infection with type 6, 11, 16, 18, 31, 33, and 35. *Am J Clin Pathol* 1990; 94: 561.
 24. Campion MJ, McCance DJ, Cuzik J, Singer A. Progressive potential of mild cervical atypia: prospective cytological, colposcopic, and virological study. *Lancet* 1986; Aug 2; 2(8501): 237-40.
 25. 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.
 26. 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.
 27. Ferency A. Viral testin for genital human papilloma virus infections. recent progress and clinical potentials. *Int Gynecol Cancer* 1995; 5: 321-8.

국문초록

목적 : 자궁경부 세포진 검사와 HPV DNA (Hybrid capture I) 검사의 임상적 유용성을 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

연구 방법 : 1995년 12월, 1일부터 1998년 3월 31일까지 조선대학교병원 산부인과 외래를 방문한 1028명의 환자 중 질확대경을 통한 조직검사 및 수술을 시행한 후 조직 검사를 시행하여 결과 비교가 가능한 환자 305명을 대상으로 본 연구를 시행하였다.

결과 : 1. 세포진 검사의 민감도는 63.0%, 특이도는 88.1%, 양성 예측율은 89.7%, 음성 예측율은 59.3%이었다.

2. HPV DNA 검사의 민감도는 51.9%, 특이도는 85.3%, 양성 예측율은 85.2%, 음성 예측율은 52.1%이었다.

3. HPV DNA 검사와 세포진 검사를 병행하였을 경우 민감도는 76.9%, 특이도는 76.9%, 위양성률은 23.1%, 위음성률은 23.1%이다.

결론 : 본 연구에서 자궁경부암 선별 검사로서 형태학적 검사인 세포진 검사와 생물학적 검사인 HPV DNA 검사를 동시에 사용하면 서로의 단점을 보완하여 향후 적절한 선별검진의 간격을 결정하는 등 자궁경부암 조기 진단에 매우 유용하게 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

중심단어 : 자궁경부암, HPV DNA test, 세포진 검사