

자궁경부암과 자궁경부상피내종양의 등급에 따른 인유두종바이러스의 감염 양상

인제대학교 의과대학 부산백병원 산부인과학교실
박현경 · 강영미 · 박재묵 · 최영조 · 김영남 · 정대훈 · 김기태

Prevalence and Genotyping of HPV in Different Grades of Cervical Intraepithelial Neoplasia and Cervical Cancer

Hyun Kyung Park, M.D., Young Mi Kang, M.D., Jae Mook Park, M.D.,
Young Jo Choi, M.D., Young Nam Kim, M.D., Dae Hoon Jeong, M.D., Ki Tae Kim, M.D.

*Department of Obstetrics and Gynecology, Busan Paik Hospital, College of Medicine,
InJe University, Busan, Korea*

Objective : Our purpose was to evaluate the prevalence and genotypic distribution of HPV infection by newly developed HPV DNA chip in various cervical lesions and to assess the relationship between HPV genotypes and different grades of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and cervical cancer.

Methods : Between December 2001 and May 2003, 394 patients who visited Busan Paik hospital due to abnormal Pap smear or colposcopic finding, were involved and classified into 5 groups according to their cytologic diagnoses: nonspecific chronic cervicitis (n=36), ASCUS/AGUS (n=36), LSIL (n=46), HSIL (n=131), cervical cancer (n=145). We examined HPV positivity and genotype of the specimens using HPV DNA chip, which detects 22 HPV genotypes including 15 high-risk HPV groups (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68/69) and 7 low-risk HPV groups (6/11/34/40/42/43/44).

Results : The overall detection rate of HPV infection was 71.1% (280/394), and the detection rate of high-risk HPV infection was 67.0% (264/394). According to the grade of the lesions, the detection rates of high-risk of HPV infection were 19.4% (7/36) in nonspecific chronic cervicitis, 16.7% (6/36) in ASCUS/AGUS, 63.0% (29/46) in LSIL, 83.2% (109/131) in HSIL, and 77.9% (113/145) in cervical cancer. The major prevailing HPV genotypes in this study were HPV types 16, 58, 18, 35, and 52 in descending order of incidence, which averaged 86.7% for all. HPV 16 was the most common type in all the HPV-positive cases as well as HSIL and cervical cancer. HPV 18 was the second most common type in cervical cancer and HPV 58 was the second most common type in HSIL. The odds ratio was estimated to evaluate the relationship of HSIL and cervical cancer versus HPV type. HPV 16 and 35 were found to be significantly related to HSIL, cervical cancer, or HSIL and cervical cancer. HPV 58 was found to be significantly related to HSIL, or HSIL and cervical cancer.

Conclusion : In our study, HPV type 16, 18, 35, 52, and 58 were confirmed to be major prevailing subtypes in CIN and cervical cancer. Our results suggest that HPV 16, 35, and 58 positive patients have a tendency to develop HSIL and cervical cancer than other HPV positive patients.

Key Words : Human papillomavirus, HPV DNA chip, Genotype, Cervical intraepithelial naoplasia, Cervical cancer

서 론

자궁경부암은 세계에서 두번째로 흔한 여성암이며, 한국 여성에 있어서도 위암, 유방암에 이어 세번째로 흔하게 발생하고 있다.^{1,2} 여러 역학조사에서 자궁경부암 환자 중 약 70-90%에서 인유두종바이러스 (Human Papillomavirus, HPV)의 감염이 확인되고 있어 HPV 감염이 자궁경부암 발생의 중요한 원인으로 여겨지고 있으며 그 기전에 대한 분자생물학적인 연구가 활발히 진행되고 있다.^{3,4}

Gissman 등이 처음 4종류의 HPV를 보고한 이래 현재까지 약 100여종의 아형이 발견되었으며, 이들 중 약 40여종이 비노생식기에 감염을 일으키는 것으로 알려져 있다.^{5,6} 이들은 암화 능력에 따라 세 가지 또는 두 가지의 군으로 나눌 수 있는데, 크게 HPV 16, 18, 45, 56형 등과 같이 침윤성 병변에서 흔히 발견되는 고위험군과 HPV 6, 11, 42, 43, 44형 등과 같이 상피내 위험도가 낮은 병변에서 주로 발견되는 저위험군으로 나눌 수 있다.^{7,9} 비록 각각의 아형들에 대한 병태생리학적 연구가 아직 진행 중이고 임상적 효용성이 확립되지는 못하였으나, 고위험군 HPV의 지속적인 감염은 저위험군 HPV 감염에 비해 침윤성 병변이 발생할 위험이 더 높고 감염된 HPV 아형의 종류에 따라 암의 진행 및 예후가 달라짐이 보고되고 있다.¹⁰⁻¹⁴ 또한, 자궁경부 세포진 검사가 자궁경부암의 효율적인 선별검사로써 자궁경부암의 발생률과 사망률을 크게 감소시켰으나, 6-50%의 높은 위음성율로 인해 예민도가 낮다는 문제점이 있고,¹⁵ Bethesda system이 도입된 이후 효과적인 추적관리 방안이 문제시되면서, 세포진 검사를 보완하는 더욱 정확한 선별검사 체계로 HPV DNA 검사가 추가되고 있다.^{9,16,17} 따라서 자궁경부 병변을 진단하고 추적, 치료 및 예방을 하는데 자궁경부 세포진 검사와 HPV 감염 여부에 대한 검사가 임상적으로 중요하게 되었다.

이에 저자들은 최근에 개발된 HPV DNA chip을 이용하여 우리나라 여성의 자궁경부암과 자궁경부상피내종양에서 발견되는 HPV 감염 빈도와 그 아형의 분포에 대해 알아보고자 하였다.

연구 대상 및 방법

타 병원에서 시행한 자궁경부 세포진 검사 또는 자

궁경부 확대촬영술상 이상 소견을 보여 2001년 12월부터 2003년 5월까지 인제대학교 의과대학 부속 부산백병원 산부인과로 전원된 394명의 환자를 대상으로, 자궁경부 세포진 검사, 질확대경 검사 및 HPV DNA의 아형 검사를 시행하였다.

HPV 아형의 분류에는 상업적으로 사용되고 있는 PCR-based DNA microarray system인 HPV DNA Chip[®] (Biomedlab Co., Seoul, Korea)을 사용하였고 검체(자궁경부질도말)의 채취를 비롯한 검사의 모든 조작과정은 Biomedlab Co.에서 제공한 지침서에 따라 진행하였다. HPV DNA Chip[®]은 22종의 아형을 검출할 수 있도록 설계되었는데, 이 중 15개는 고위험군 HPV (16/18/31/33/35/39/45/51/52/56/58/59/66/68/69)이었고, 7개는 저위험군 HPV (6/11/34/40/42/43/44)이었다(Fig. 1).

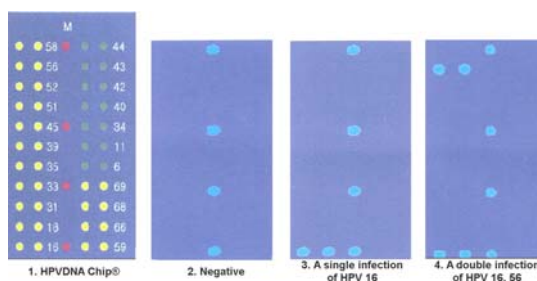


Fig. 1. Examples of HPV DNA Chip[®].

먼저 DNA isolation kit (Intron Biotech. Inc., Seoul, Korea)를 이용하여 검체로부터 DNA를 분리시키고, 분리된 DNA의 target LI region을 중합효소연쇄반응(PCR)을 통해 증폭시킨 후 indigocarbocyanine-dUTP (NEN[®] Life Science Products Inc., Boston, USA)로 표지하였다. 증폭된 DNA는 150 base pairs (bp) HPV DNA 크기의 2% agarose gel을 통해 전기영동시킴으로 검출되었다. control로 사용될 β -globin도 PCR을 통해 증폭시킨 후, 20 μ l의 HPV-amplified PCR과 10 μ l의 β -globin-amplified PCR을 3M NaOH (10% vol/vol)에 섞어 실온에서 5분간 배양하여 변성시킨다. 이후 1M Tris-HCl (PH 7.2; 5% vol/vol)을 첨가하여 중화시키고 3 M HCl (10% vol/vol)을 첨가한 뒤 얼음에 5분간 정지시킨다. 다음으로 6×SSPE (saline-sodium phosphate-EDTA buffer; Sigma Chemical Co., St Louis, Mo)와 0.2% SPS (sodium dodecylsulfate)로 구성된 교잡반응(hybridization) 용액에 넣고 잘 섞은 뒤 DNA chip에 떨어뜨리고, 이를 40℃에서 2시간 교잡반응 시킨 후 3×

SSPE로 2분, 1×SSPE로 2분간 세척하고 실온에서 건조하였다. 이렇게 얻어진 HPV DNA는 DNA Chip Scanner (Scanarray lite; GSI Lumonics, Ottawa, Canada)를 이용하여 시각적으로 확인하였다. HPV-others는 전기영동상으로는 검출이 되나, HPV DNA chip slide상으로는 검출되지 않을 때로 정의하였다.

얻어진 자료로 각 자궁경부 병변에 따라 HPV 감염 빈도와 분포 양상, 고위험군 HPV 아형의 발현 양상, 중복감염 등에 대해 조사하였다. 자료 분석은 SAS program (Ver 8.1)과 MedCalc program (Ver 6.14)을 이용하여 HPV 감염의 분포 양상, 고위험군 HPV 아형의 발현 양상에 대한 경향성 분석을 시행하였고, 각 아형에서 LSIL 이하에 대한 HSIL, 자궁경부암, 그리고 HSIL과 자궁경부암의 발생 위험 정도를 odds ratio와 95% 신뢰구간(OR; 95% confidence interval)으로 나타내었으며, 통계적 유의성의 판정 기준은 $\alpha=0.05$ 로 하였다.

결 과

1. 대상 환자군의 특성

본원에서 시행한 자궁경부 세포진 검사 및 질확대경 검사상 비특이적 병변인 경우가 36명, atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS) 및 atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS)가 36명, low grade squamous intraepithelial lesion (LSIL)이 46명, high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL)이 131명, 자궁경부암이 145명이었다. 환자의 연령 분포는 평균 46.2세(22-84세)로 병변의 정도에 따른 평균 연령은 비특이적 병변인 경우 42.8세, ASCUS 및 AGUS 42세, LSIL 43.4세, HSIL 43.2세, 자궁경부암 51.6세이었고, 총 394명 중 30세 이하가 30명, 31세에서 40세가 105명, 41세에서 50세가 132명, 51세에서 60세가 77명, 61세 이상이 50명이었다.

2. HPV 아형의 분포(Table 1)

전체 394명의 환자 중에서 280명(71.1%)에서 HPV가 검출되었으며, 검출되지 않은 예는 비특이적 병변인 경우 28명(77.8%), ASCUS 및 AGUS인 경우 27명(75.0%), LSIL인 경우 12명(26.1%), HSIL인 경우 21명(16.0%), 자궁경부암인 경우 26명(17.9%)으로 비특이

적 병변과 ASCUS 및 AGUS에서는 HPV가 검출되지 않은 예가 검출된 경우보다 더 많았다. 병변의 정도에 따른 HPV 아형의 분포를 보면 비특이적 병변인 경우에 16, 45형, ASCUS 및 AGUS인 경우에 16, 18, 52, 58형, LSIL인 경우에 16, 51, 56, 52, 58, 18, 66형, HSIL인 경우에 16, 58, 52, 35, 18형, 자궁경부암인 경우에 16, 18, 58, 35, 52형의 순으로 높게 검출되었고, 고위험군 HPV 중에서 69형은 한 명의 환자에서도 검출되지 않았다.

고위험군 HPV는 전체 394명의 환자 중에서 264명(67.0%)에서 검출되었고, 병변의 정도에 따라 비특이적 병변인 경우 19.4% (7/36), ASCUS 및 AGUS인 경우 16.7% (6/36), LSIL인 경우 63.0% (29/46), HSIL인 경우 83.2% (109/131), 자궁경부암인 경우 77.9% (113/145)에서 검출되어, 고위험군 HPV의 양성률은 HSIL 및 자궁경부암과 밀접한 상관성을 보였다($p<0.01$).

검출된 HPV 아형의 분포를 살펴보았을 때, 자궁경부 병변의 정도에 관계없이 HPV 16형이 가장 많이 검출되었는데 전체적으로 34.5% (136/394)에서 검출되었고 LSIL보다 HSIL 및 자궁경부암에서 더 많이 검출되었다($p<0.01$). 다음으로 흔하게 검출된 형은 58형으로 전체적으로 11.4% (45/394)에서 검출되었으며, HPV 16형과 마찬가지로 LSIL보다 HSIL과 자궁경부암에서 더 많이 검출되었다($p<0.01$). 다음으로 HPV 18, 35, 52형이 5.9% (22/394)에서 검출되어, HPV 16, 18, 35, 52, 58형이 검출된 고위험군 HPV 아형의 86.7%를 차지했다.

각각의 HPV 아형에 대한 연령 분포는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

3. 중복감염

2가지 이상의 아형이 동시에 검출된 예는 총 53례로, 비특이적 병변에서 1례, LSIL에서 8례, HSIL에서 26례, 자궁경부암에서 18례에서 검출되었고 ASCUS 및 AGUS에서는 검출되지 않았다. 53예 중에서 이중감염이 44례, 3중감염이 7례, 4중감염과 5중감염이 각각 1례였다(Table 2). 연령별로 보면 30세 이하에서 5예, 31세에서 40세가 18례, 41세에서 50세가 16례, 51세에서 60세가 14례였고, 61세 이상에서는 관찰되지 않았다.

Table 1. Distribution of HPV subtypes by HPV DNA chip in different grades of CIN and cervical cancer

| HPV genotypes | NCC (n=36) | ASCUS/AGUS (n=36) | LSIL (n=46) | HSIL (n=131) | CC (n=145) | Total (n=394) | P-value [†] |
|----------------|------------|----------------------|-------------|--------------|------------|---------------|----------------------|
| High-risk HPVs | 7 | 6 | 29 | 109 | 113 | 264 | <0.01 |
| HPV 16 | 5** | 3 | 11 | 47 | 70 | 136 | <0.01 |
| HPV 18 | 0 | 1 | 2 | 7 | 12 | 22 | NS |
| HPV 31 | 0 | 0 | 1 | 3 | 3 | 7 | NS |
| HPV 33 | 0 | 0 | 1 | 5 | 3 | 9 | NS |
| HPV 35 | 0 | 0 | 1 | 11 | 10 | 22 | NS |
| HPV 39 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 | 4 | NS |
| HPV 45 | 2 | 0 | 0 | 2 | 3 | 7 | NS |
| HPV 51 | 0 | 0 | 4 | 6 | 0 | 10 | NS |
| HPV 52 | 0 | 1 | 3 | 12 | 6 | 22 | NS |
| HPV 56 | 0 | 0 | 4 | 4 | 3 | 11 | NS |
| HPV 58 | 0 | 1 | 3 | 29 | 12 | 45 | <0.01 |
| HPV 59 | 0 | 0 | 1 | 0 | 4 | 5 | NS |
| HPV 66 | 0 | 0 | 2 | 2 | 1 | 5 | NS |
| HPV 68 | 1 | 0 | 1 | 3 | 2 | 7 | NS |
| HPV 69 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | NS |
| Low-risk HPVs | 1 | 1 | 4 | 10 | 4 | 20 | NS |
| HPV 6 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | NS |
| HPV 11 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 5 | NS |
| HPV 34 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | NS |
| HPV 40 | 0 | 0 | 0 | 3 | 4 | 7 | NS |
| HPV 42 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 3 | NS |
| HPV 43 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | NS |
| HPV 44 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 3 | NS |
| Others* | 0 | 2 | 4 | 1 | 5 | 12 | NS |
| Negative | 28 | 27 | 12 | 21 | 26 | 114 | NS |

* Others types are human papillomavirus types other than the 22 types found on the DNA chip (positive in PCR analysis but negative on the HPV DNA Chip®).

** Multiple infections were counted according to the number of infections; Each datum represents the number of HPV DNA detection,

[†] P-value was calculated by Mantel-Haenszel χ^2 test for trend,

NCC: nonspecific chronic cervicitis,

ASCUS/AGUS: atypical squamous cells of undetermined significance/ atypical glandular cells of undetermined significance,

LSIL: low grade squamous intraepithelial lesion,

HSIL: high grade squamous intraepithelial lesion,

CC: cervical cancer.

Table 2. Multiple HPV infection by HPV DNA chip in HPV-positive cases

| No. of HPV types detected | NCC (n=8) (%) | ASCUS/AGUS (n=7) (%) | LSIL (n=30) (%) | HSIL (n=109) (%) | CC (n=114) (%) | Total (n=268) (%) |
|---------------------------|------------------|-------------------------|--------------------|---------------------|-------------------|----------------------|
| One | 7 (87.1)* | 7 (100) | 22 (73.3) | 83 (76.1) | 96 (84.2) | 215 (80.2) |
| More than One | 1 (12.9) | | 8 (26.7) | 26 (23.9) | 18 (15.8) | 53 (19.8) |
| Two | 1 | | 7 | 20 | 16 | 44 |
| Three | | | 1 | 5 | 1 | 7 |
| Four | | | | | 1 | 1 |
| Five | | | | 1 | | 1 |

* The datum and percentage were from all type-specific infected cases,

NCC: nonspecific chronic cervicitis,

ASCUS/AGUS: atypical squamous cells of undetermined significance/ atypical glandular cells of undetermined significance,

LSIL: low grade squamous intraepithelial lesion,

HSIL: high grade squamous intraepithelial lesion,

CC: cervical cancer.

Table 3. Distribution of HPV subtypes by HPV DNA chip according to the histologic types in cervical cancer

| HPV genotypes | SCC (n=121) (%) | Adeno (n=15) (%) | Adenosq (n=5) (%) | Small (n=3) (%) | CCC (n=1) (%) |
|---------------|--------------------|---------------------|----------------------|--------------------|------------------|
| HPV 16 | 63** (52.1) | 5 (33.3) | 1 (20.0) | | |
| HPV 18 | 4 (4.1) | 4 (26.7) | 1 (20.0) | 2 (66.7) | |
| HPV 35 | 10 (8.3) | | | | |
| HPV 52 | 6 (5.0) | | | | |
| HPV 58 | 12 (9.9) | | | | |
| Others* | 44 (36.4) | 7 (46.7) | 3 (60.0) | 1 (33.3) | 1 (100) |

* Others are remaining types except HPV 16, 18, 35, 52, and 58,

** Multiple infections were counted according to the number of infections; Each datum represents the number of HPV DNA detection,

SCC: squamous cell carcinoma of uterine cervix,

Adeno: adenocarcinoma of uterine cervix,

Adenosq: adenosquamous cell carcinoma of uterine cervix,

Small: small cell carcinoma of uterine cervix,

CCC: clear cell carcinoma of uterine cervix.

4. 자궁경부암에서 HPV 아형의 분포

자궁경부암의 경우 조직병리학적 종류에 따른 HPV의 감염 행태를 비교하였는데, 편평상피암이 121예, 선암이 15예, 상피선암이 5예, 소세포암이 3예, 투명세포암이 1예였다. 고위험군 HPV의 검출률을 보면, 편평상피암에서 79.3% (96/121), 선암에서 73.3% (11/15), 상피선암에서 80% (4/5), 소세포암에서 66.7% (2/3)이었고 투명세포암에서는 검출되지 않았다. HPV 16, 18, 35, 52, 58형이 검출된 고위험군 HPV의 97.3%를 차지

하였으며, 편평상피암에서는 HPV 16형이 63예, 18형이 5예, 35형이 10예, 52형이 6예, 58형이 12예, 그 외의 고위험군 HPV들이 44예에서 검출되었고, 선암에서는 16형이 5예, 18형이 4예, 16, 18, 35, 52, 58형을 제외한 나머지 고위험군 HPV들이 7예에서 검출되었다(Table 3).

5. 위험도 분석

각각의 HPV 유형에 대해 HSIL과 자궁경부암의 발

Table 4. Risk assessment of CIN and cervical cancer by HPV typing using HPV DNA chip

| HPV types | HSIL | Cervical cancer | HSIL & Cervical cancer |
|-----------|-----------------------|----------------------|------------------------|
| | OR (95% CI) | OR (95% CI) | OR (95% CI) |
| HPV 16 | 2.915 (1.589-5.350) | 4.863 (2.698-8.766) | 3.834 (2.221-6.618) |
| HPV 18 | 2.164 (0.547-8.568) | 3.459 (0.953-12.559) | 2.834 (0.822-9.767) |
| HPV 31 | 2.742 (0.281-26.731) | 2.472 (0.254-24.080) | 2.600 (0.310-21.838) |
| HPV 33 | 4.643 (0.535-40.330) | 2.472 (0.254-24.080) | 3.493 (0.432-28.243) |
| HPV 35 | 10.725 (1.363-84.395) | 8.667 (1.093-68.718) | 9.635 (1.281-72.491) |
| HPV 39 | 1.814 (0.162-20.267) | 0.813 (0.050-13.130) | 1.286 (0.132-12.489) |
| HPV 45 | 0.899 (0.125-6.487) | 1.225 (0.201-7.457) | 1.070 (0.205-5.596) |
| HPV 51 | 1.368 (0.376-4.972) | - | 0.633 (0.175-2.287) |
| HPV 52 | 2.874 (0.901-9.171) | 1.230 (0.339-4.466) | 1.988 (0.658-6.007) |
| HPV 56 | 0.898 (0.219-3.672) | 0.602 (0.132-2.745) | 0.742 (0.213-2.583) |
| HPV 58 | 8.103 (2.755-28.837) | 2.571 (0.807-8.194) | 4.972 (1.739-14.220) |
| HPV 59 | - | 3.319 (0.366-30.106) | 1.721 (0.190-15.560) |
| HPV 66 | 0.899 (0.125-6.487) | 0.403 (0.036-4.498) | 0.637 (0.105-3.865) |
| HPV 68 | 1.359 (0.223-8.280) | 0.811 (0.113-5.847) | 1.070 (0.205-5.596) |

OR: odds ratio,

95% CI: 95% confidence interval.

생 간의 odds ratio와 95% 신뢰구간을 측정하였다. 분석 결과 HPV 16형에 감염된 환자에서 HSIL이 발생할 OR가 2.915 (95% CI=1.589-5.350)이었고, 자궁경부암이 발생할 OR가 4.863 (95% CI=2.698-8.766)이었으며, HSIL과 자궁경부암이 발생할 OR는 3.834 (95% CI=2.221-6.618)이었다. HPV 35형에 감염된 환자에서는 HSIL이 발생할 OR가 10.725 (95% CI=1.363-84.395)이었고, 자궁경부암이 발생할 OR가 8.667 (95% CI=1.093-68.718)이었으며, HSIL과 자궁경부암이 발생할 OR는 9.635 (95% CI=1.281-72.491)이었다. HPV 58형에 감염된 환자에서는 HSIL이 발생할 OR가 8.103 (95% CI=2.755-28.837)이었고, HSIL과 자궁경부암이 발생할 OR는 4.972 (95% CI=1.739-14.220)이었다 (Table 4).

고 찰

현재까지 자궁경부암의 원인에 대해 명백히 밝혀진 바는 없으나 여러 역학적 연구결과들에 의하면 성적

접촉(특히 젊은 나이에 시작된 성적 접촉), 다수의 배우자, 흡연, 감염 등이 연관성이 있는 것으로 알려져 왔고, 특히 인유두종바이러스(Human Papillomavirus, HPV)의 지속적인 생식기 감염이 자궁경부암 및 전암 병변의 발생과 밀접하게 연관된 것으로 알려지면서 HPV의 감염을 진단할 수 있는 선별검사법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.^{18,19} HPV의 검색과 분류를 위해 여러 가지 분자생물학적인 방법을 이용하여 왔는데, Southern blot hybridization, dot blot hybridization, Filter in situ hybridization (FISH), Soluble hybridization (Hybrid Capture System), 중합효소 연쇄반응 (Polymerase chain reaction, PCR) 등과 같은 방법들이 있으며 hybrid capture법과 PCR법이 민감도가 높아 유용하다고 알려져 있다.^{20,21}

자궁경부암의 조기진단을 위한 선별검사로 널리 알려진 자궁경부 세포진 검사는 전 세계적으로 보편화되면서 자궁경부암의 발생률과 사망률을 크게 감소시키는 역할을 하였으나 위음성율이 높아 완벽한 검사라 할 수는 없다. 더욱이 젊은 여성들에서 발현 속도

가 빠른 암의 발생이 증가하고 있어,²² 저등급 병변의 추적 관리를 위한 보조적 검사로 HPV 감염에 대한 검사를 시행하게 되었는데, ASCUS/LSIL Triage Study (ALTS)의 연구에서는 세포진 검사상 ASCUS/LSIL로 나온 병변에 대해서 HPV DNA 검사를 추가하는 것이 향후 전암 병변 및 자궁경부암으로 진행되는 것을 예측하는데 높은 민감도를 보인다고 하였다.²³

HPV 감염이 자궁경부 정상 세포에서 종양억제인자의 불활성화를 초래하여 비정형성 세포로의 변이를 유발하기는 하지만 이 중 2-30%만이 LSIL로 바뀌는데, LSIL 중 HPV 감염률은 60% 정도로 보고된다. 이러한 바이러스 감염은 몇 개월 동안 그대로 세포 내에 존재하다가 대부분은 자연 소실되고 고령 등의 다른 위험인자를 가진 일부 환자에서 지속적인 고위험군 HPV 감염으로 HSIL이 발생되며 이런 HSIL은 대부분이 자궁경부암으로 이행하는 것으로 알려져 있다. 그러나 HPV 감염 중에서도 저위험군 HPV 아형은 HSIL과 자궁경부암으로 발전하지 않는 것으로 밝혀져 있다.^{24,25} 대개 자궁경부에 새로운 HPV 감염이 발생하기까지의 기간은 8개월 정도로 보고 있으며, 6개월 이상을 지속하는 감염은 환자의 연령, 감염된 HPV의 유형, 그리고 중복감염의 여부 등과 관계된다.²⁶ HSIL과 자궁경부암을 조기 진단해야 하는 이유는 즉각적인 치료가 요구된다는 점이므로, HPV의 감염 여부를 진단하고 그 아형을 분류하는 것이 반복적 세포진 검사보다 환자의 추적 관리에 보다 유용하다고 볼 수 있다.^{24,25}

새로이 개발된 HPV oligonucleotide microarray system은 하나의 HPV DNA chip으로 한번에 여러 개의 검체를 검사할 수 있어 효율적으로 임상에 이용할 수 있고 검출해 낼 수 있는 HPV 아형의 종류도 많으며 동시에 여러 아형의 감염을 검출해 낼 수 있어 기존의 Hybrid Capture-II system보다 유용한 정보를 제공한다.²⁷ 검출된 HPV의 아형을 참고하여, ASCUS 및 LSIL로 진단된 환자에서 HPV 16형이나 18형이 검출되면 다른 형이 검출되는 환자보다 HSIL과 자궁경부암으로의 진행이 빠를 수 있다는 것을 염두에 두고 추적 관찰하여야 한다. 본 연구에서 검출된 HPV 아형의 분포와 빈도를 보면 자궁경부암에서 16, 18, 45, 31, 33형의 순으로 검출되는 IARC의 통계와는 달리^{3,4} HPV 16, 18, 58, 35, 52형의 순으로 검출되었으며 HSIL에서도 HPV 16, 58, 52, 35, 18형의 순으로 검출되어, 이들이 HSIL과 자궁경부암에서 검출된 고위험군 HPV의

95% 이상을 차지했다(HSIL: 97.2%, 자궁경부암: 97.3%). 베트남의 경우 HPV 16, 58, 18, 56형의 빈도로 검출되는 것을 보면, 이러한 차이는 지역 및 검출 방법에 따라 HPV 감염의 유병률 및 아형의 분포가 다르기 때문으로 생각된다.^{28,29} HPV 16, 18, 35, 52, 58형이 HSIL과 자궁경부암에서 검출된 HPV의 97%를 차지한다는 것은 자궁경부암의 관리에 있어 중요한 점을 시사한다. 즉 이 5가지 흔한 HPV 아형에 대한 효과적인 예방접종으로 자궁경부암으로 이행될 환자의 97%를 예방할 수 있기 때문이다. 그러나 본 연구의 결과에서도 보는 바와 같이 HPV 감염의 유병률과 아형 분포의 지역적 차이가 이러한 백신 개발의 장애가 되고 있어, 진단, 치료, 예방의 관점에서 볼 때, 각 인구집단에 대한 포괄적인 연구가 필요하다.^{30,31}

본 연구에서 자궁경부암의 조직병리학적 종류에 따른 HPV 아형의 분포를 보면, HPV 16형이 자궁경부 편평상피암과 선암 모두에서 많이 검출되었고, 다음으로 편평상피암에서는 HPV 58, 35, 52, 18형의 순으로, 선암에서는 HPV 18형이 많이 검출되었다. HPV 18형의 경우 자궁경부 편평상피암(4.1%)에 비하면 상대적으로 선암(26.7%)에서 많이 검출되었으나, 자궁경부암에서는 HPV 16형이, 자궁경부 선암에서는 HPV 18형이 가장 많이 검출된다고 하는 기존의 보고들과 차이를 보이고 있다.^{12,14} 그러나 본 연구에서는 자궁경부 편평상피암에 비해 자궁경부 선암의 표본수가 너무 작아 일반화하기에는 무리가 있다고 생각되며, 더 큰 표본수의 연구가 필요하다고 생각된다.

앞에서 언급된 바와 같이 HPV DNA chip은 중복감염의 여부를 쉽게 알아낼 수 있는데 본 연구에서는 총 53예에서 중복감염이 발생하였다. 병변의 정도와 중복감염 간의 상관성은 통계학적 유의성이 없었고 연령 분포는 모두 60세 이하의 여성에서 나타났다. 이러한 중복감염의 빈도는 연구에 따라 다양하게 보고되지만 대개 10-30% 정도로 대동소이하고 그 기전에 대한 설명 또한 다양하며, 중복감염과 자궁경부암의 예후와의 관계는 아직 명확하지 않다.^{32,33}

HPV DNA chip을 이용하면 동시에 여러 HPV 아형의 감염을 검출해 낼 수 있으므로 즉각적인 치료가 요구되는 HSIL이나 자궁경부암이 발생할 위험도가 높은 HPV 아형을 평가하는데 유용하게 사용될 수 있다. 본 연구 결과, HPV 16형과 35형에서 HSIL (OR 2.915 in HPV 16; OR 10.725 in HPV 35)과 자궁경부암(OR 4.863 in HPV 16; OR 8.667 in HPV 35), 그리고 HSIL

이상의 병변(OR 3.834 in HPV 16; OR 9.635 in HPV 35)이 발생할 위험도가 높았고, HPV 58형은 HSIL (OR 8.103)이나 HSIL 이상의 병변(OR 4.972)이 발생할 위험도가 높게 분석되었다.

본 연구 결과 모든 군에서 HPV 16형이 가장 많이 검출되었고 다음으로 HPV 58형이, 다음으로 18, 35, 52형이 많이 검출되어, 이 HPV 아형들이 한국 여성의 자궁경부 병변에서 검출되는 주된 HPV 아형으로 확인되었다. 특히 HPV 16형과 35, 58형은 HSIL 이상의 병변이 발생할 위험도가 높아서, 이 아형들이 검출될 경우 다른 형이 검출되는 환자보다 HSIL과 자궁경부암 발생의 위험도가 높다는 점을 염두에 두면 치료 방침을 결정하는데 도움이 되리라 생각된다.

참고문헌

1. Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000. The global picture. *Eur J Cancer* 2001; 37 Suppl 8: S4-66.
2. 보건복지부. 한국 중앙암등록사업 연례보고서. 2002년 발표 (2000.1-2000.12).
3. Munoz N. Human papillomavirus and cancer: the epidemiological evidence. *J Clin Virol* 2000; 19: 1-5.
4. 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.
5. Gissman H, Pfister H, zur Hausen H. Human papillomavirus (HPV). Characterization of 4 different isolates. *Virology* 1977; 76: 569-80.
6. Matsukura T, Sugase M. Relationships between 80 human papillomavirus genotypes and different grades of cervical intraepithelial neoplasia: association and causality. *Virology* 2001; 283: 139-47.
7. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 328-37.
8. Myers G, Lu H, Calef C, Leitner T. Heterogeneity of papillomavirus. *Semin Cancer Biol* 1996; 7: 349-58.
9. Schiffman M, Herrero R, Hildesheim A, Sherman ME, Bratti M, Wacholder S, et al. HPV DNA testing in cervical cancer screening: results from women in a high-risk province of Costa Rica. *JAMA* 2000; 283: 87-93.
10. Lai HC, Sun CA, Yu MH, Chen HJ, Liu HS, Chu TY. Favorable clinical outcome of cervical cancers infected with human papilloma virus type 58 and related types. *Int J Cancer* 1999; 84: 553-7.
11. Pirog EC, Kleter B, Olgac S, Bobkiewicz P, Lindeman J, Quint WG, et al. Prevalence of human papillomavirus DNA in different histological subtypes of cervical adenocarcinoma. *Am J Pathol* 2000; 157: 1055-62.
12. Shyu JS, Chen CJ, Chiu CC, Huang SC, Harn HJ. Correlation of human papillomavirus 16 and 18 with cervical neoplasia in histological typing and clinical stage in Taiwan: an in-situ polymerase chain reaction approach. *J Surg Oncol* 2001; 78: 101-9.
13. Walker J, Bloss JD, Liao SY, Berman M, Bergen S, Wilczynski SP. Human papillomavirus genotype as a prognostic indicator in carcinoma of the uterine cervix. *Obstet Gynecol* 1989; 74: 781-5.
14. Iwasawa A, Nieminen P, Lehtinen M, Paavonen J. Human papillomavirus DNA in uterine cervix squamous cell carcinoma and adenocarcinoma detected by polymerase chain reaction. *Cancer* 1996; 77: 2275-9.
15. Gay JD, Donaldson LD, Goellner JR. False-negative results in cervical cytologic studies. *Acta Cytol* 1985; 29: 1043-6.
16. Wright TC Jr, Cox JT, Massad LS, Twiggs LB, Wilkinson EJ. ASCCP-Sponsored Consensus Conference. 2001 Consensus Guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities. *JAMA* 2002; 287: 2120-9.
17. Cox JT, Lorincz AT, Schiffman MH, Sherman ME, Cullen A, Kurman RJ. 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.
18. Drain PK, Holmes KK, Hughes JP, Koutsky LA. Determinants of cervical cancer rates in developing countries. *Int J Cancer* 2002; 100: 199-205.
19. Ho GY, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P, et al. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1365-71.
20. Godfroid E, Heinderyckx M, Mansy F, Fayt I, Noel JC, Thiry L, et al. Detection and identification of human papilloma viral DNA, types 16, 18, and 33, by a combination of polymerase chain reaction and a colorimetric solid phase capture hybridization assay. *J Virol Methods* 1998; 75: 69-81.
21. Lorincz AT. Molecular methods for the detection of human papillomavirus infection. *Obstet Gynecol Clin North Am* 1996; 23: 707-30.
22. Hildesheim A, Hadjimichael O, Schwartz PE, Wheeler CM, Barnes W, Lowell DM, et al. Risk factors for rapid-onset cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180:

- 571-7.
23. Solomon D, Schiffman M, Tarone R. 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(4): 293-9.
24. Remmink AJ, Walboomers JM, Helmerhorst TJ, Voorhorst FJ, Rozendaal L, Risse EK, et al. The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: natural history up to 36 months. *Int J Cancer* 1995; 61: 306-11.
25. Romney SL, Ho GY, Palan PR, Basu J, Kadish AS, Klein S, et al. Effects of beta-carotene and other factors on outcome of cervical dysplasia and human papillomavirus infection. *Gynecol Oncol* 1997; 65: 483-92.
26. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998; 338: 423-8.
27. 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.
28. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Munoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 88: 63-73.
29. Pham TH, Nguyen TH, Herrero R, Vaccarella S, Smith JS, Nguyen Thuy TT et al. Human papillomavirus infection among women in South and North Vietnam. *Int J Cancer* 2003; 104: 213-20.
30. Plummer M, Franceschi S. Strategies for HPV prevention. *Virus Res* 2002; 89: 285-93.
31. Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, Herrero R, Castellsague X, Shah KV, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-27.
32. Herrero R, Hildesheim A, Bratti C, Sherman ME, Hutchinson M, Morales J et al. Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 464-74.
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.

국문초록

목적 : HPV DNA chip을 이용하여 우리나라 여성의 자궁경부암과 자궁경부상피내종양에서 발견되는 HPV 감염 빈도와 그 아형의 분포에 대해 알아보고자 하였다.

연구 방법 : 타병원에서 시행한 자궁경부 세포진 검사 또는 자궁경부 확대촬영술상 이상 소견을 보여 2001년 12월부터 2003년 5월까지 인제대학교 부속 부산백병원 산부인과로 내원한 394명의 환자를 대상으로 하였다. Bethesda System에 근거하여 세포학적 분류를 하였으며(비특이적 병변; 36명, ASCUS/AGUS; 36명, LSIL; 46명, HSIL; 131명, 자궁경부암; 145명), HPV 아형 분류는 현재 상업적으로 사용되고 있는 HPV DNA Chip[®] (Biomedlab Co., Seoul, Korea)을 이용하였다.

결과 : 전반적인 HPV 감염률은 71.1% (280/394)였고, 고위험군 HPV의 감염률은 67.0% (264/394)였다. 병변의 정도에 따른 고위험군 HPV의 감염률을 보면, 비특이적 병변인 경우 19.4% (7/36), ASCUS 및 AGUS인 경우 16.7% (6/36), LSIL인 경우 63.0% (29/46), HSIL인 경우 83.2% (109/131), 자궁경부암인 경우 77.9% (113/145)에서 검출되었다. 고위험군 HPV 아형의 분포를 보면 HPV 16, 58, 18, 35, 52형 등의 순서였고, 이 HPV 아형들이 검출된 고위험군 HPV의 86.7%를 차지했다. HPV 16형이 HSIL과 자궁경부암을 포함하여 모든 병변에서 가장 많이 검출되었고, 다음으로 HSIL에서는 HPV 58형이, 자궁경부암에서는 HPV 18형이 많이 검출되었다. 각각의 HPV 아형에 대해 HSIL과 자궁경부암이 발생할 위험도를 평가하였을 때, HPV 16형과 35형에서 HSIL 이상의 병변이 발생할 위험도가 높았고, HPV 58형은 HSIL이나 HSIL 이상의 병변이 발생할 위험도가 높았다.

결론 : 본 연구에서는 모든 군에서 HPV 16형이 가장 많이 검출되었고 다음으로 HPV 58형이, 다음으로 18, 35, 52형이 많이 검출되어, 이 HPV 아형들이 한국 여성의 자궁경부암과 자궁경부상피내종양에서 검출되는 주된 HPV 아형으로 확인되었다. 특히 HPV 16형과 35, 58형은 HSIL 이상의 병변이 발생할 위험도가 높아, 이 아형들이 검출될 경우 다른 형이 검출되는 환자보다 HSIL과 자궁경부암의 위험도가 높다는 점을 염두에 두면 치료 방침을 결정하는데 도움이 되리라 생각된다.

중심단어 : 인유두종바이러스, HPV DNA chip, 아형, 자궁경부상피내종양, 자궁경부암