

## 방광암 진단을 위한 세 가지 요채집법에 따른 ThinPrep 검사와 Melanoma Antigen Gene 역전사 중합효소연쇄반응법의 검출성적 비교

김덕윤<sup>1</sup> · 조혁진<sup>1</sup> · 오훈규<sup>2</sup> · 신임희<sup>3</sup> · 전창호<sup>4</sup>

대구가톨릭대학교 의과대학 비뇨기과학교실<sup>1</sup>, 병리학교실<sup>2</sup>, 의학통계학교실<sup>3</sup>, 진단검사의학교실<sup>4</sup>

### Comparison of the Urine ThinPrep Test and Melanoma Antigen Gene RT-PCR for the Detection of Bladder Cancer According to Three Urine Collection Methods

Duk-Yoon Kim, M.D.<sup>1</sup>, Hyuk Jin Cho, M.D.<sup>1</sup>, Hoon Kyu Oh, M.D.<sup>2</sup>, Im Hee Shin, M.D.<sup>3</sup>, and Chang Ho Jeon, M.D.<sup>4</sup>

Departments of Urology<sup>1</sup>, Pathology<sup>2</sup>, Biomedical Statistics<sup>3</sup>, and Laboratory Medicine<sup>4</sup>, College of Medicine, Catholic University of Daegu, Daegu, Korea

**Background :** For the detection of transitional cell carcinoma (TCC) of the bladder, we compared the sensitivities and specificities between the ThinPrep test and Melanoma Antigen Gene (MAGE) test with voided urine (V), drained urine (D), and irrigated urine (I).

**Methods :** We randomly selected 10 patients of a non-cancer group and 20 patients of a cancer group. V, D, and I were obtained preoperatively, and equally divided into two parts for the ThinPrep test and MAGE reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). The cystoscopic finding was used as the reference standard for detection of bladder cancer. The results of ThinPrep test and MAGE RT-PCR were compared according to cancer grade and stage.

**Results :** The overall sensitivities of ThinPrep test were 45%, 85% and 85% for V, D, and I, respectively, while those of MAGE test were 50%, 85%, and 65%. Detection rate from drainage urine was considerably higher than that of voided urine in both methods ( $P<0.05$ ). The specificities were 100% for all types of urine specimens with ThinPrep test and 100%, 90%, and 90% for V, D, and I, respectively, using MAGE test, without any statistically significant differences.

**Conclusions :** For the detection of bladder cancer, MAGE RT-PCR and ThinPrep test showed a comparable sensitivity and specificity, and drained urine revealed the best detection rate. MAGE RT-PCR might be utilized as another marker of bladder cancer using urine specimens. (*Korean J Lab Med* 2007;27:50-5)

**Key Words :** Bladder cancer, Cytology, Urine, MAGE

## 서 론

접 수 : 2006년 7월 5일      접수번호 : KJLM1964  
수정본접수 : 2006년 11월 28일  
게재승인일 : 2006년 11월 29일  
교 신 자 : 전 창 호  
우 705-034 대구광역시 남구 대명 4동 3056-6  
대구가톨릭대학교 의과대학 진단검사의학교실  
전화 : 053-650-4144, Fax : 053-623-8672  
E-mail : chjeon@cu.ac.kr

\*본 연구는 산업자원부 지방기술혁신사업(RTI04-03-01) 지원으로 수행되었음.

방광 이행상피 세포암은 우리나라 비뇨생식기암 중 발생빈도가 가장 높은 종양으로[1] 표재성 암이 약 70%로 대부분을 차지하며, 경요도절제술로 치료할 수 있지만 50-80%에 이르는 높은 재발률과 10-25%에서는 침윤성 방광암으로 진행한다[2]. 따라서 조기진단 및 치료 후 철저한 추적관찰을 요한다. 진단 및 추적검사에서는 요세포 검사와 방광경 검사가 표준화된 검사 방법이다. 요세포 검사는 분화도가 좋고 저병기의 방광암에서 낮은 민감도

를 보이며 관독자에 따라 결과에 차이를 보일 수 있어 다소 주관적 검사라는 단점이 있다. 방광경 검사는 침습적인 검사법으로 환자들에게 불편감 및 통증을 주며 간혹 시야에서 볼 수 없는 경우가 있으나 아직까지 민감도와 특이도를 고려할 때 이를 대체할 방법이 없는 실정이다. 그러므로 이러한 단점을 보완하면서 비침습적이고 저병기, 저분화도의 방광암에 대해서도 민감도가 높으면서 동시에 높은 특이도를 유지할 수 있는 검사가 필요하다. 최근 방광암 진단에 있어 비침습적이고, 요세포 검사의 낮은 민감도를 보완하기 위하여 방광암 환자의 소변을 이용한 다양한 검사로 BTA stat, BTA TRAK, NMP22, Accu-Dx, Immunocyt, Telomerase, HA-HAase와 Quanticyt 등이 시도되고 있다[3]. 이들은 요세포 검사보다 높은 민감도를 가지지만 특이도가 낮아 방광경 검사나 요세포 검사를 대신하지 못하고 있다.

많은 연구에서 ThinPrep (ThinPrep®2000 System: Cytyc Corporation, Boxborough, MA, USA) 검사는 기존의 직접도말법 및 원심도말법(cytospin preparation)과 비교시 위음성률이 낮으며 높은 특이도를 유지하면서 요세포 검사 보다 전반적인 민감도가 높은 것으로 보고되고 있다[4-6]. Melanoma antigen gene (MAGE)은 정상세포에서는 발현되지 않으며, 암세포에 특이적으로 나타나는 유전자로 각종 암 조직 및 체액에서 높은 민감도와 특이도를 보이는 검사이다[7]. 국내외에서 소변을 이용한 방광암 진단과 관련된 보고는 없었다. 또한 일반적으로 이용되는 비침습적이고 간편한 배뇨검체를 이용한 요세포 검사의 민감도를 증가시킬 수 있는 방법으로 배출뇨나 세척뇨를 이용한 방법이 소개되어 왔으며, 이들의 유용성에 대해서는 논란이 되어 왔다.

이에 저자들은 세 가지 채집법에 따른 소변, 즉 배뇨한 소변, 배출뇨, 그리고 방광세척뇨를 이용하여 요 ThinPrep 검사와 MAGE 검사를 시행하여, 방광암 검출을 위한 두 가지 검사법의 민감도와 특이도를 비교하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 연구대상

2004년 8월부터 2005년 7월까지 방광암이 의심되어 경요도절제술을 통해 방광 이행상피 세포 암으로 진단받은 환자 20명을 대상으로 연령은 39세부터 80세로, 평균 60.8세였으며 남자 18명, 여자 2명이었다. 방광암 군의 병기 결정은 경요도절제술 후 병리 조직검사 결과를 바탕으로 1997년 American Joint Committee on Cancer (AJCC)가 제시한 방법으로 TNM 분류를 시행하였고, 분화도는 1998년 WHO에서 제시한 방법에 따라 저등급 분화도 및 고등급 분화도로 분류하였다. 방광암 환자들은 pTa 9명, pT1 5명, pT2 6명이었으며, 저등급 분화도 9명, 고등급 분화도 11명이었다. 대조군은 양성 비뇨기계 질환자(10명)로 특별한 과거력이나 혈뇨가 없는 전립선비대증, 복잡성 요실금, 요도카운클,

신우요관 이행부 협착, 요관 협착 등 방광경 검사에서 이상 소견이 없는 환자들로 하였으며, 대조군의 나이는 22세에서 71세 사이로 평균 50.2세 였으며 남자 1명, 여자 9명이었다.

### 2. 연구재료

두 군 모두 수술 당일 아침 첫 소변 100 mL을 배뇨(voided urine: V)를 통해 채집하였고, 이후 수술 전 방광경 삽입 후 바로 배출되는 뇨(drainage urine: D)와 방광암 환자들에서 경요도 절제술을 시행하기 직전에, 그리고 대조군에서도 수술 직전에 0.9% 생리식염수 100 mL를 사용하여 방광세척으로 소변(irrigated urine: I)을 채취하여 세포들이 침전되지 않게 잘 혼합한 후, 즉시 ThinPrep 검사와 MAGE 검사 용기에 각각 50 mL씩 나누어 담았다.

한편 중앙군에서는 수술로 채취한 조직의 일부를 절제하여 Trizol 용액 1 mL이 들어있는 소 시험관에 담아 검사 일까지 냉동 보관하였다.

### 3. 연구방법

#### 1) ThinPrep 검사

ThinPrep 검사는 자동화된 liquid-based monolayer cell preparation system으로 시행하였다. 요 ThinPrep 검사 방법은 검체를 채취한 후 즉시 완충-저장액인 Cytolyt에서 부유상태로 보관시킨 뒤 PreserCyt 용기에 나누어 담고, 이 용기 안으로 여과막이 있는 실린더를 삽입시킨 후 용액 내 세포들이 균질상태로 분포하도록 실린더를 회전시키고, 음압을 가해 여과막을 통해 적혈구, 점액 등은 통과하고 진단을 위한 세포들만 여과막에 남도록 하였다. 적절한 세포수(2,000-50,000개)가 채집될 때까지 계속하여 유속을 조절하였으며, 이후 실린더를 용기에서 제거하여 여과막에 남은 세포들을 슬라이드에 부착시킨 후 95% 알코올로 고정하였다. 검사결과는 한 명의 병리과 전문의에 의해 판독되었으며 음성, 비정형, 의심 및 양성으로 분류한 뒤 음성 및 비정형은 음성으로, 의심 및 양성만 양성으로 판독하였다.

#### 2) MAGE 검사

##### (1) Total RNA 분리

소변을 원심 하여 상층을 제거한 후 세포층에 1 mL의 TRI 시약(Molecular Research Center, Cincinnati, USA)을 첨가한 후 진탕혼합하였다. 이후 RNA 추출일까지 냉동 보관하였고 RNA 추출은 TRI시약 제조회사에서 제공된 방법을 따랐다. RNA 추출 후 DEPC 증류수에 녹인 후 분광광도계를 이용하여 RNA의 농도와 순도를 측정하였다. 종양 조직은 검사 당일 냉동 검체를 녹인 다음 homogenizer로 조직을 분쇄하였으며, 이후 RNA 추출은 소변 검체와 동일하게 조작하였다. 추출한 RNA는 즉시 역전사 이중 중합효소 연쇄반응에 사용하였다.

## (2) 역전사 및 이중 중합효소 연쇄반응

Total RNA 용액을 70°C 수조에 10분간 방치한 뒤 얼음에 보존하였다. 역전사 및 이중 중합효소 연쇄반응은 MAGE capture 시약(iC&G Co., 대구, 한국)을 사용하였다. 이때 cDNA를 대상으로 GAPD 유전자를 함께 증폭하여 RNA 변성 여부를 확인하였다. 증폭된 산물은 1% agarose gel에 PCR 산물을 점종하고 전기영동한 뒤 UV transilluminator를 이용하여 490 bp 및 320 bp의 MAGE 및 GAPD 유전자의 중합효소 연쇄반응 산물을 관찰하였다(Fig. 1).

MAGE A1-6 nested PCR에 사용한 시발체의 염기서열은 Table 1과 같다.

## 4. 통계분석

모든 통계분석처리는 SPSS (Chicago, Illinois, USA, version 11.5)를 사용하였다. 병기 및 분화도에 따른 두 검사의 민감도 및 특이도 비교와 각 검체간의 비교는 카이제곱 검정으로 하였고, *P*-value가 0.05 미만일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

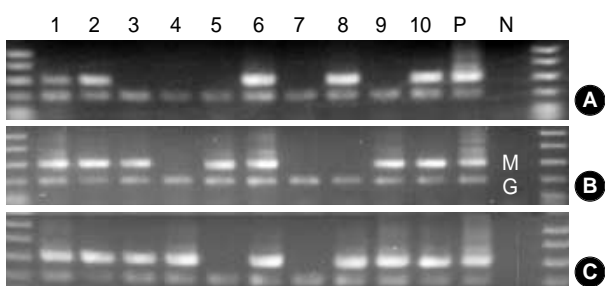


Fig. 1. Results of MAGE RT-nested PCR from voided urine (A), drained urine (B) and irrigated urine (C) of bladder cancer. Patient no. 1-10; P, positive control; N, negative control; M, 490 bp of MAGE product; G, 320 bp of GAPD internal control.

Table 1. Primer sequences used for melanoma antigen gene A1-6 RT-nested PCR

Primers	Usage	Sequence	Size
C1	Outer sense	5'-CTG AAG GAG AAG ATC TGC C-3'	850 bp
C2	Outer antisense	5'-CTC CAG GTA GTT TTC CTG CAC-3'	
C3	Inner sense	5'-CTG AAG GAG AAG ATC TGC CAG TG-3'	490 bp
C4	Inner antisense	5'-CCA GCA TTT CTG CCT TTG TGA-3'	

Table 2. Expression of MAGE A1-6 from the transitional cell carcinoma of bladder according to the differentiation grade

Grade	Number	Number of positive (%)
Low	8	5 (62.5)
High	10	10 (100)
Total	18	15 (83.3)

## 결 과

방광암 조직 18예 중 15예에서 MAGE 유전자가 발현되어 83.3%의 양성률을 나타내었다(Table 2). 저분화도 암조직 8예 중 5예(62.5%), 고분화도 암 조직에서는 10예 중 10예(100%) 모두 양성으로 나타났다.

방광암 환자에서 요 ThinPrep 검사와 MAGE 검사의 민감도(Table 3)는 V에서 각각 45.0%, 50.0%, D에서 각각 85.0%, 85.0%, I에서 각각 85.0%, 65.0%로서 두 검사 간에 유의한 차이가 없었다. 또한 요 채집법에 따른 두 검사의 민감도는 요 ThinPrep 검사에서 V보다 D나 I에서 유의하게 민감도가 높았으며 MAGE 검사에서도 V보다 D에서 유의하게 민감도가 높았고 D와 I간에는 유의한 차이가 없었다. 요 ThinPrep 검사와 MAGE 검사의 특이도(Table 3)는 V에서 두 검사 모두 100%, D에서 각각 100%, 90%, I에서 100%, 90%를 각각 나타내었으며 두 검사법 및 검체 종류에 따른 유의한 차이는 없었다.

저분화도 방광암에서 요 ThinPrep 검사와 MAGE 검사의 민감도(Table 4)는 V에서 각각 44.4%, 25.0%, D에서 모두 88.9%, I에서 각각 66.7%, 44.4%로서 V와 I에서 요 ThinPrep 검사가 MAGE 검사보다 민감도가 유의하게 높았다. 또한 요 채집법에 따른 두 검사의 민감도는 두 검사 모두 V보다 D나 I에서 유의하게 민감도가 높았고 요 ThinPrep 검사에서는 D와 I간에 유의성이 없었으나 MAGE 검사에서는 D에서 I보다 민감도가 유의하게 높았다.

고분화도 방광암에서 두 검사의 민감도(Table 4)는 V에서 각

Table 3. Comparison of overall sensitivities and specificities of urine ThinPrep and MAGE test

Specimen	Sensitivity			Specificity		
	ThinPrep (%)	MAGE (%)	<i>P</i> -value	ThinPrep (%)	MAGE (%)	<i>P</i> -value
V	9/20 (45) <sup>*,†</sup>	9/18 (50) <sup>‡</sup>	0.608	0/10 (100)	0/10 (100)	1.000
D	17/20 (85) <sup>*</sup>	17/20 (85) <sup>‡</sup>	1.000	0/10 (100)	1/10 (90)	0.468
I	17/20 (85) <sup>‡</sup>	13/20 (65)	0.102	0/10 (100)	1/10 (90)	0.468

<sup>\*,†,‡</sup>: *P*<0.05.

Abbreviations: V, voided urine; D, drainage urine; I, irrigated urine.

Table 4. Comparison of sensitivity of urine ThinPrep and MAGE test

Grade	Specimen	ThinPrep (%)	MAGE (%)	<i>P</i> -value
Low	V	4/9 (44.4) <sup>*,†</sup>	2/8 (25) <sup>‡,§</sup>	0.022
	D	8/9 (88.9) <sup>*</sup>	8/9 (88.9) <sup>‡,  </sup>	1.000
	I	6/9 (66.7) <sup>‡</sup>	4/9 (44.4) <sup>§,  </sup>	0.029
High	V	5/11 (45.5) <sup>*,†</sup>	7/10 (70)	0.026
	D	9/11 (81.8) <sup>*</sup>	9/11 (81.8)	1.000
	I	11/11 (100) <sup>‡</sup>	9/11 (81.8)	0.182

Low: <sup>\*,†,‡,§,||</sup>: *P*<0.05, High: <sup>\*,†</sup>: *P*<0.05.

Abbreviations: See Table 3.

각 44.5%, 70.0%, D에서 모두 81.8%, I에서 각각 100.0%, 81.8%로서 V에서 MAGE 검사가 요 ThinPrep 검사보다 민감도가 유의하게 높았다. 또한 요 채집법에 따른 두 검사의 민감도는 요 ThinPrep 및 MAGE 검사 모두 V보다 D나 I에서 유의하게 민감도가 높았고 D와 I간에 유의성이 없었다.

## 고 찰

방광암의 높은 재발률과 진행성으로 인하여 그 진단과 추적 관찰이 중요하며 조기에 발견하고 재발에 대한 효과적인 추적 관찰만이 방광암으로 인한 이환율을 감소시킬 수 있다. 선별검사와 조기검진에 이용되기 위해서는 검사의 민감도 및 특이도 뿐 아니라, 침습도 정도도 영향을 미친다. 방광경 검사는 방광암 진단에 가장 필수적인 검사이나 침습적이고, 크기가 작거나 상피내암인 경우, 위치가 방광경부나 전벽에 있을 때는 간혹 발견하기가 힘든 단점이 있다. 요세포 검사는 배뇨검체를 이용 시 비 침습적이며 전반적인 특이도는 99% (83-100%)이고 민감도는 34% (20-55%)이다[8]. 또한 상피내암과 고분화도 방광암의 경우 민감도와 특이도가 각각 최대 95%, 100%로 보고되고 있지만, 저등급 분화도 암의 경우 민감도가 떨어져 20%까지 보고되었다. 세포진 검사에서 민감도가 낮은 이유는 세포수가 적을 경우나, 저분화도 방광암에서 세포의 미세한 비정형성이 있는 경우, 반응성 변화가 있는 경우, 퇴행성 변화 및 방광 내 약물 주입 등이다[9]. 따라서 방광암으로 치료를 받고 추적관찰 중인 환자들의 경우에 주기적인 방광경검사와 요세포 검사만으로는 만족할 만한 결과를 얻지 못하는 경우가 있어 이에 대한 보완 검사가 필요하다. 이에 비침습적이며 신속하고 간단하게 환자의 요를 이용해서 방광암을 진단할 수 있는 새로운 방법들에 대한 다양한 연구들이 진행되어, 방광종양 표지자 및 소변을 이용한 여러 검사들이 개발되었으며, 이들의 전반적인 민감도는 47-100%를 보이지만 특이도는 60-70%[3]로 낮은 특이도로 인하여 이들 방법만으로는 암의 진단이나 추적관찰에 만족할 만한 결과를 얻을 수 없었다.

ThinPrep 검사는 최근 수년 전부터 비뇨기계통에 이용되고 있는 새로운 방법의 요세포 검사법으로 liquid-based monolayer cell preparation system을 이용하여 검체를 처리하므로 기존의 요세포 검사와 비교 시 슬라이드에 세포수가 많고 균일하게 분포하며 배경이 깨끗하고 세포핵이 선명하다. 또한 염증세포, 적혈구, crystal, 그리고 단백질 부스러기에 의해 결과에 영향을 미치는 요소들이 감소하는 등 빠르고 정확하게 판독할 수 있는 장점이 있다[10, 11]. 많은 보고에서 기존의 요세포 검사와 비교 시 위음성률을 감소시키면서 고분화도 및 저분화도 방광암에서도 민감도를 높이는 좋은 결과를 보이고 있다[2, 3]. Wright와 Halford[11]는 1장의 ThinPrep 슬라이드가 기존의 슬라이드 4장에서 얻을 수 있는 정보를 대신할 수 있다고 했으며, 준비과정도 간단하고 일정해서 검사과정의 숙련도가 크게 중요하지 않아도 된다고 하였다. 방광암

환자들의 병기 그리고 분화도 등의 차이는 있지만 박 등[6]은 배뇨검체를 이용한 ThinPrep 검사의 전반적인 민감도를 75%로 보고하였다.

저자들의 연구에서는 배뇨검체에서 민감도가 45%로 다소 낮았지만 배출뇨에서 85%의 높은 민감도를 보였다. 본 연구에서 배뇨검체의 민감도가 45%로 낮은 이유는 검체를 채취한 후 즉시 고정해서 검사일로 이송하는 과정이 지연되어 나타났을 것으로 생각된다. 이런 양상은 MAGE 검사에서도 비슷하게 나타났으며 RNA 보존이 무엇보다 중요한 MAGE 검사에서 더 큰 영향을 받았을 것으로 보인다. 반면 배출뇨와 세척뇨는 세포수도 많이 배출되었을 것이며, 또한 즉시 검사일로 전달되어 높은 민감도를 나타낸 것으로 생각된다.

MAGE는 종양 고환 항원(cancer testis antigen)의 일종으로 1991년 Bruggen 등에 의하여 melanoma 세포주에서 발견되었으며 종양세포와 남성의 생식기 세포 및 태반에서만 발현되며 정상 세포는 발현되지 않은 매우 특이적인 유전자이다[11]. MAGE 유전자는 많은 아형이 존재하고 있으며[12, 13] 이 중 A 유전자가 각종 종양에서 많이 연구되었다[14]. MAGE A 유전자는 1-12까지의 아형으로 구분되며 각 아형에 따라 종양세포에서 20-40% 정도의 발현율을 보이는 것으로 알려져 있다[15]. 국내에서 이에 대한 연구는 아직 시작 단계라 할 수 있어서, 두경부암, 대장암, 난소암 등에서 몇몇 연구들이 있을 뿐이고 비뇨기계에 대한 연구는 전무하다. 또한 소변을 이용한 방광암 진단을 위한 MAGE 검사는 본 연구가 유일한 것으로 알고 있다. 저자들은 MAGE A 유전자 중 1-6까지의 아형을 동시에 증폭할 수 있는 공동 시발체를 이용하여 종양 검출률을 높이려 하였다. 전 등[7]의 보고에 의하면 이들 공동 시발체를 이용하여 각종 종양환자의 종양조직에서 양성률은 평균 78.9% (66.7-100%), 혈액을 제외한 각종 체액에서 70.0% (58.8-87.5%), 그리고 특이도는 97.1% (91.1-100%)라고 하였으며 지금까지 알려진 검사법 중 암세포 검출에 가장 높은 민감도와 특이도를 보인다고 하였다. 현재까지 방광암과 관련된 보고들은 대부분 종양조직에서 일부 MAGE 아형의 발현을 조사한 것들로서 Kocher 등[16]은 방광암 환자에서 MAGE A4의 발현율을 조직을 이용하여 조사하였으며 편평상피 세포암에서 44.5%로 가장 높았고 이행상피 세포암에서는 18.5%의 발현을 보인다고 했으며, 고병기 고분화도 암에서 발현율이 높다고 하였다. Patard 등[17]은 방광 이행상피 세포암 환자의 종양 조직에서 MAGE 1, 2, 3, 4의 발현을 조사하였는데 각각의 발현율이 21%, 30%, 35%, 33%였으며, 저분화도 저병기의 방광암에서는 MAGE의 발현이 없거나 일부에서 4개의 유전자 중 1개만 발현이 된다고 하였고 정상 방광조직에서 발현되지 않는다고 하였다. Bar-Haim 등[18]도 방광암 환자의 종양조직에서 MAGE A8이 74% 발현되었다고 하였고 정상조직에서의 발현은 없었다고 했다. 본 연구의 공동 시발체를 이용한 MAGE 검사는 종양조직에서 발현율이 83.3%로 기존의 보고보다 더 높았다. 저자들의 경우 저병기와 고병기의 민감도가 각각 62.5%, 100%로 고병기로 갈수록 민감도

가 증가하였으며, 대조군에서는 조직을 이용하여 MAGE 검사를 시행하지 못하여 정상조직에서의 발현여부는 비교할 수 없었다.

저자들은 ThinPrep 검사와 MAGE 검사에 배뇨검체 뿐 아니라 배출뇨 및 세척뇨를 이용하였다. 세척뇨는 침습적인 방법이지만 방광세척으로 소변 내 탈락된 세포를 증가시킬 수 있다고 Trott와 Edwards[19]가 보고한 후 많이 이용되고 있는 방법으로, 여러 보고에서 배뇨검체보다 세척뇨가 우수하다고 하였다[20-24]. 하지만 상반된 주장으로 Eissa 등[25]은 배뇨검체와 방광세척뇨를 이용한 요세포 검사의 민감도 비교에서 각각 58.4%와 64.4%로 유의한 차이를 보이지 않았다고 하였고, 이는 방광세척을 세 번 시행하여 충분한 세포탈락이 일어나지 않은 결과라고 지적하였다. 또 다른 보고에서 배뇨검체와 세척뇨를 이용한 요세포 검사에서 민감도가 각각 38%와 38.1%로 두 검체 간에 차이가 없었다고 보고했다[26]. Badalament 등[23]은 두 차례 배뇨검체로 요세포 검사를 시행하면 침습적인 세척뇨와 비슷한 결과를 보인다고 하였다. 이처럼 배뇨검체와 세척뇨의 유용성에 대해서는 아직 이견이 있으며, 상반된 결과를 보이는 이유는 저자들마다 공통된 방광 세척법을 사용하지 않았고, 소변이 모두 배출된 방광에 생리식염수로 세척해서 세포들을 탈락시키는 것 보다 몇 시간 동안 탈락된 세포들이 축적되어 있는 배뇨검체 또는 배출뇨에서 세포들이 더 많이 포함되어 있을 것으로 생각된다. 이는 본 연구의 배출뇨와 세척뇨의 민감도 비교에서 세척뇨의 민감도가 대부분의 경우에 배출뇨 보다 낮게 나타난 이유가 될 수 있을 것으로 생각된다. 저자들은 방광세척을 다섯 차례 이상 하였으며 요 ThinPrep 검사에서는 배뇨검체와 세척뇨에서 각각 45% 및 85%로 민감도가 유의하게 높았으며, MAGE 검사에서는 50%, 65%로 유의성 있게 높지는 않았다.

요세포 검사의 민감도를 증가시키는 방법으로 Planz 등[26]은 소변 검체의 양과 관련이 있다고 했다. 즉 민감도를 증가시키기 위해서는 배뇨한 소변을 모두 다 검사에 이용해서 요로 상피세포를 최대한 많이 모을 수 있어야 한다고 하였다. Mungan 등[27]은 요세포 검사에 있어 첫 소변, 중간 뇨 그리고 마지막 소변을 이용한 결과, 유의성은 없었지만 마지막 소변에서 민감도가 가장 높았다고 하였고 이는 배뇨근 수축이 배뇨의 마지막 부분에서 가장 높아서 마지막 소변에 세포들이 가장 많다고 하였다. Murphy 등[28]은 방광경 삽입 후의 배출뇨와 세척뇨의 비교에서 20-30%의 경우에서 종양세포가 배출뇨에서 관찰되고 세척뇨에서 관찰되지 않아 배출뇨의 유용성을 강조했다. 저자들의 경우에 있어서도 환자들이 검사 용기에 일정양만 채우는 배뇨검체보다 방광경 삽입 후 방광에 있는 소변을 모두 배출시킨 배출뇨를 이용한 경우에 요 ThinPrep 검사와 MAGE 검사의 민감도가 45%와 50%에서 모두 85%로 증가되었다. 저자들의 경우 방광경 삽입 후 배출뇨를 채취하였으나 이는 침습적 방법이므로 이를 대신해서 환자의 자연 배뇨 시 마지막 소변까지 모두 채취해서 검사하는 방법이나 직경이 가는 카테터를 삽입하여 방광의 소변을 모두 배출시키는 방법 또한 대안이 될 수 있을 것으로 간주된다.

## 요 약

**배경 :** 저자들은 방광암 환자와 대조군의 배뇨, 배출뇨, 세척뇨를 채취하여 ThinPrep 검사와 MAGE 검사의 민감도와 특이도를 조사하였다.

**방법 :** 방광암 환자 20명과 대조군 10명으로부터 수술 전 아침 첫 배뇨를 채취하였고 또한 배출뇨와 세척뇨를 각각 채취하였다. 채취한 소변은 2개의 시험관에 균등하게 나누어져 ThinPrep 검사와 MAGE 검사를 각각 시행하였다. 방광암 존재의 확인은 방광경 소견을 기준으로 하였다. ThinPrep 검사와 MAGE 검사의 결과는 종양의 분화도와 병기에 따라 비교하였다.

**결과 :** 방광암 환자의 배뇨, 배출뇨 및 세척뇨에서 요 ThinPrep 검사의 민감도는 45%, 85% 및 85%로 나타내었으며 MAGE 검사는 50%, 85% 및 65%로 각각 나타났다. 두 가지 방법에서 모두 배출뇨는 배뇨보다 의미 있는 높은 민감도를 나타내었다( $P < 0.05$ ). 특이도 검증에서 ThinPrep 검사는 세가지 뇨에서 모두 100%였으나, MAGE 검사는 배뇨 100%, 배출뇨 및 세척뇨 90%로 나타났다. 하지만 두 검사법의 민감도 및 특이도의 의미 있는 차이는 관찰되지 않았다.

**결론 :** 방광암 검출에서 MAGE 역전사 중합효소 연쇄반응법은 ThinPrep 검사와 동등한 민감도와 특이도를 보였으며, 배출뇨는 가장 높은 종양 검출률을 나타내었다. MAGE 검사는 소변에서 방광암을 검출하는 또 하나의 종양표지자로 사용될 수 있을 것이다.

## 참고문헌

1. Kim WJ, Chung JI, Hong JH, Kim CS, Jung SI, Yoon DK. Epidemiological study for urologic cancer in Korea (1998-2002). Korean J Urol 2004;45:1081-8. (김원재, 정재일, 홍준혁, 김청수, 정세일, 윤덕기. 한국의 비뇨기 종양에 관한 역학조사(1998-2002). 대한비뇨기과학회지 2004;45: 1081-8.)
2. Raghavan D, Shipley WU, Garnick MB, Russell PJ, Richie JP. Biology and management of bladder cancer. N Engl J Med 1990;322:1129-38.
3. Lokeshwar VB and Soloway MS. Current bladder tumor tests: does their projected utility fulfill clinical necessity? J Urol 2001;165:1067-77.
4. Nicol TL, Kelly D, Reynolds L, Rosenthal DL. Comparison of Tri-Path thin-layer technology with conventional methods on nongynecologic specimens. Acta Cytol 2000;44:567-75.
5. Bishop JW, Bigner SH, Colgan TJ, Husain M, Howell LP, McIntosh KM, et al. Multicenter masked evaluation of AutoCyte PREP thin layers with matched conventional smears. Including initial biopsy results. Acta Cytol 1998;42:189-97.
6. Park YW, Chung JH, Lee HM. A comparison of the availability of

- the urine ThinPrep(R) test and urine cytology in the diagnosis of bladder cancer. *Korean J Urol* 2003;44:734-8. (박연원, 정진행, 이현무. 방광암 진단에 있어서 요ThinPrep검사와 요세포검사의 유용성 비교. 대한비뇨기과학회지 2003;44:734-8.)
7. Jeon CH, Lee SC, Hyun DS, Hong SI, Hong YJ, Chang YH, et al. Evaluation of sensitivity and specificity of MAGE A1-6 RT-nested PCR as a cancer detection method. *Korean J Lab Med* 2003;23:357-62. (전창호, 이상채, 현대성, 홍석일, 홍영준, 장윤환 등. 종양세포 검출을 위한 MAGE A1-6 역전사 이중 증폭효소연쇄반응법의 민감도 및 특이도 평가. 대한진단검사의학회지 2003;23:357-62.)
  8. Lotan Y and Roehrborn CG. Sensitivity and specificity of commonly available bladder tumor markers versus cytology: results of a comprehensive literature review and meta-analyses. *Urology* 2003;61:109-18.
  9. Ro JY, Staerckel GA, Ayala AG. Cytologic and histologic features of superficial bladder cancer. *Urol Clin North Am* 1992;19:435-53.
  10. Nassar H, Ali-Fehmi R, Madan S. Use of ThinPrep monolayer technique and cytospin preparation in urine cytology: a comparative analysis. *Diagn Cytopathol* 2003;28:115-8.
  11. Wright RG and Halford JA. Evaluation of thin-layer methods in urine cytology. *Cytopathology* 2001;12:306-13.
  12. van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991;254:1643-7.
  13. Chomez P, De Backer O, Bertrand M, De Plaen E, Boon T, Lucas S. An overview of the MAGE gene family with the identification of all human members of the family. *Cancer Res* 2001;61:5544-51.
  14. Zammattéo N, Lockman L, Brasseur F, De Plaen E, Lurquin C, Lobert PE, et al. DNA microarray to monitor the expression of MAGE-A genes. *Clin Chem* 2002;48:25-34.
  15. Yamada A, Kataoka A, Shichijo S, Kamura T, Imai Y, Nishida T, et al. Expression of MAGE-1, MAGE-2, MAGE-3/-6 and MAGE-4a/-4b genes in ovarian tumors. *Int J Cancer* 1995;64:388-93.
  16. Kocher T, Zheng M, Bolli M, Simon R, Forster T, Schultz-Thater E, et al. Prognostic relevance of MAGE-A4 tumor antigen expression in transitional cell carcinoma of the urinary bladder: a tissue microarray study. *Int J Cancer* 2002;100:702-5.
  17. Patard JJ, Brasseur F, Gil-Diez S, Radvanyi F, Marchand M, Francois P, et al. Expression of MAGE genes in transitional-cell carcinomas of the urinary bladder. *Int J Cancer* 1995;64:60-4.
  18. Bar-Haim E, Paz A, Machlenkin A, Hazzan D, Tirosh B, Carmon L, et al. MAGE-A8 overexpression in transitional cell carcinoma of the bladder: identification of two tumour-associated antigen peptides. *Br J Cancer* 2004;91:398-407.
  19. Trott PA and Edwards L. Comparison of bladder washings and urine cytology in the diagnosis of bladder cancer. *J Urol* 1973;110:664-6.
  20. Matzkin H, Moinuddin SM, Soloway MS. Value of urine cytology versus bladder washing in bladder cancer. *Urology* 1992;39:201-3.
  21. Harris MJ, Schwinn CP, Morrow JW, Gray RL, Browell BM. Exfoliative cytology of the urinary bladder irrigation specimen. *Acta Cytol* 1971;15:385-99.
  22. Zein T, Wajzman Z, Englander LS, Gamarra M, Lopez C, Huben RP, et al. Evaluation of bladder washings and urine cytology in the diagnosis of bladder cancer and its correlation with selected biopsies of the bladder mucosa. *J Urol* 1984;132:670-1.
  23. Badalament RA, Hermansen DK, Kimmel M, Gay H, Herr HW, Fair WR, et al. The sensitivity of bladder wash flow cytometry, bladder wash cytology, and voided cytology in the detection of bladder carcinoma. *Cancer* 1987;60:1423-7.
  24. Uh KW and Kim KS. Comparative examination on bladder washings and urine for the diagnosis of bladder cancer in cytology. *Korean J Urol* 1980;21:143-6. (어강우 및 김기수. 방광암 세척물과 방광뇨의 세포진단적 비교 관찰. 대한비뇨기과학회지 1980;21:143-6.)
  25. Eissa S, Labib RA, Mourad MS, Kamel K, El-Ahmady O. Comparison of telomerase activity and matrix metalloproteinase-9 in voided urine and bladder wash samples as a useful diagnostic tool for bladder cancer. *Eur Urol* 2003;44:687-94.
  26. Planz B, Jochims E, Deix T, Caspers HP, Jakse G, Boecking A. The role of urinary cytology for detection of bladder cancer. *Eur J Surg Oncol* 2005;31:304-8.
  27. Mungan NA, Kulacoglu S, Basar M, Sahin M, Witjes JA. Can sensitivity of voided urinary cytology or bladder wash cytology be improved by the use of different urinary portions? *Urol Int* 1999;62:209-12.
  28. Murphy WM, Crabtree WN, Jukkola AF, Soloway MS. The diagnostic value of urine versus bladder washing in patients with bladder cancer. *J Urol* 1981;126:320-2.