Korean Journal of Obstetrics and Gynecology
Vol. 53 No. 12 December 2010

자궁경부 상피 내 종양에서 인유두종바이러스 감염과 클라미디아 트라코마티스의 감염에 대한 임상적 고찰

단국대학교 의과대학 산부인과학교실

양정선 · 정윤희 · 김종수

The study of association between human papillomavirus and *Chlamydia trachomatis* infection in cervical intraepithelial neoplasia

Jung-Sun Yang, M.D., Yun-Hee Jeong, M.D., Jong-Soo Kim, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Dankook University College of Medicine, Cheonan, Korea

Objective: The aim of this study is to comparing the prevalence and correlationships between human papillomavirus (HPV) and *Chlamydia trachomatis* (CT) infection in cervical samples among women with abnormal cervical cytology.

Methods: This study was included three hundred seventy four patients with a abnormal liquid-based cytology in Dankook University hospital. All of them underwent HPV DNA test and CT analysis with polymerase chain reaction. All patients also went through colposcopic directed cervical biopsies or Loop Electrosurgical Excision Procedure, conization. The histo-pathologic results were classified as normal, cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 1, CIN 2, CIN 3 and carcinoma in situ (CIS).

Results: Abnormal liquid-based cytology patients were pathologically proven to have CIN. Among 374 patients, the number of within normal limits (chronic cervicitis) and koilocytosis was 186 cases (49.7%), CIN 1, 64 cases (17.1%), CIN 2 16 cases (4.3%) CIN 3, 55 cases (14.7%), and CIS, 53 cases (14.2%). HPV DNA positive patients were 235 cases and HPV DNA negative patients were 139 cases. The impact of CT infection seems not to interfere with the development or even the progression of CIN. Thirty one patients had positive infection of CT (8.3%) and 343 patients were negative infection of CT (91.7%). Both HPV and CT positive infected patients were 25 cases (6.7%) in abnormal cytologic women. The correlation between HPV and CT DNA positive among women with abnormal cytology was statistically significant. (P=0.022)

Conclusion: This study suggests that CT infection is associated with HPV infection, but the clinical significance of the association between CT and HPV infection remains to be elucidated.

Key Words: Cervical intraepithelial neoplasia, Human papilloma virus, *Chlamydia trachomatis*, Liquid-based cytology

인유두종바이러스(Human papillomavirus, HPV)와 클라미디아(*Chlamydia Trachomatis*) 감염이 유사한 전파경로로 인하여 HPV와 클라미디아 감염이 자궁경부암의 발생과 연관이 있다는 여러 보고 이후 이들의 상관성에 대해 많은 연구가 이루어졌다.[1-3] 클라미디아는 가장 흔한 성전파성 질환으로 골반 내 감염인 자궁내막염, 골반의 염증성 질환, 자궁외 임신, 만성 골반통, 불임 등의 합병증을 유발하는 원인이 되며 산과에서는 조기진통, 조기양막파수, 분만 중 신생아의 감염으로 폐렴, 신생아 결막염 등의 원인이 되고 있다.[4,5] 또한 HPV 양성인 여성에서 자궁경부에서 클라미디아를 배양하거나 클라미디아 DNA나 IgG 특이항

접 수 일 : 2010. 7. 21.
수 정 일 : 2010. 10. 18.
채 택 일 : 2010. 11. 17.
교신저자 : 김종수
E-mail : soo8541@hanmail.net
*이 연구는 2009학년도 단국대학교 대학연구비 지원으로 연구되었음.

체가 HPV DNA 음성인 군보다 HPV DNA 양성인 군에서 높이 검출되는 것으로 확인되었으며,[6-8] 비록 클라미디아와 HPV 감염과의 정확한 관계는 아직 완전히 확립되지 않았으나, 클라미디아 감염이 자궁경부암 발달에 있어서 자체적으로 역할을 할 수도 있으며 HPV DNA 감염이 보조적인 역할을 할 수도 있는 것으로 추정하고 있다. 클라미디아의 감염이 HPV DNA 감염의 대리 표지자 역할을 하며 침윤성 자궁경부암의 발생기전에 HPV DNA 감염이 협력하여 작용한다고 보여진다.[9] 또한 다른 연구에서는 HPV DNA 감염과 클라미디아 감염이 각각 독립적으로 일어나며 서로 무관하다고 주장하기도 한다.[10,11]

이 연구의 목적은 자궁경부 액상세포진 검사(Liquid-based cytology)를 이용한 Thin prep® (Cytic Corporation, Boxborough, MA, USA)의 결과 이상 소견군에서 HPV DNA감염과 클라미디아 감염에 각각 또는 동시에 감염된 환자군의 조직학적 소견을 비교하고 두 군의 동시 감염의 연관성과 이들이 자궁경부 이형성에 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 자궁경부 액상세포진(Liquid-based cytology) 검사 및 조직검사

본 연구에서는 2007년 1월부터 2009년 12월까지 3년 동안 단국대학교의료원 산부인과 외래를 방문하여 자궁경부 액상세포진 검사(Thin prep®)에서 미확정 비정형 편평세포(atypical squamous cells of undetermined significance, ASCUS), 저등급 및 고등급 평편상피 내 병변(low-grade squamous intraepitherial lesion, LSIL; high-grade squamous intraepitherial lesion, HSIL)으로 진단된 환자 중 질확대경하 조직생검 및 원추절제술을 시행하여 조직학적 검사결과가 나온 환자군을 대상으로 하였으며 자궁경부 액상세포진 검사 시 HPV DNA 검사와 클라미디아 DNA 검사를 동시에 시행하였다. 연구에 참여된 환자군은 374명이며 개인 면담을 실시하여 환자의 연령, 과거력, 산과력, 흡연유무, 음주여부, 기타 부인과적 질환 등의 특성을 조사하였다. 조직학적 결과는 World Health Organization (WHO)의 cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 체계에 의거하여 정상, CIN 1, CIN 2, CIN 3, 그리고 carcinoma in situ (CIS)로 분류하였으며, 만성 염증 소견은 정상으로 분류하였다. Invasive cervical cancer로 진단된 군은 이번 연구에 포함하지 않았다.

연구에 사용된 자궁경부 액상세포진 검사는 미국 Cytyc 사에서 새로운 자궁경부암 및 자궁경부 상피 내 종양 선별 검사법으로 개발하여 1996년 5월 미국 식품의약청(Food and Drug Administration)에서 기존의 Papanicolaou 자궁경부 세포진 검사를 대치할 수 있는 검사 방법으로 승인받았다. 이 방법은 기존 방식인 손으로 세포를 채취하여 슬라이드에 도말하지 않고 세포를 채취한 기구를 특수보존액이 담겨져 있는 용기에 담그고 철저히 세척함으로써 버려지던 많은 세포들을 보전하고 세포의 형상을 보호하며, 이 용기를 검사실로 보내어 자동화된 Thin prep processor 기계에 의해 질적으로 보다 선명하고 얇게 도말된 슬라이드를 제작함으로써 슬라이드 준비를 향상시키는 새로운 자궁경부 액상세포진 검사 방법으로 판독은 본원 해부 병리과에서 시행하였다. 자궁경부 액상세포진 검사상 이상소견의 검체는 모두 질확대경하 착공생검, 원추생검술등으로 조직학적 판독 결과를 토대로 하였다. HPV DNA와 클라미디아 DNA는 동일한 조직에서 검사하였고 피검자들의 자발적인 참여로 이루어졌다.

2. HPV DNA

검사 HPV 감염유무의 검사는 환자의 질에 멸균된 speculum을 삽입하고 cytobrush를 이용하여 자궁경부 세포를 수집하여 My HPV chip kit (MyGene Co., Seoul, Korea)을 이용하여 검사하였다. 본원에서 HPV DNA 검사에 이용한 My HPV chip kit은 그 원리가 HPV oligonucleotide microassay test로 마이크로어레이칩(microarray) 기술을 적용하고 있다. 칩을 제조하는 spotter를 이용하여 lysine이 코팅된 유리슬라이드에 HPV 유전자형별 특이 올리고를 부착시키고 baking과 세척과정을 통해 유전자칩을 제작하고 올리고염기와 상보적인 염기서열을 증폭시킬 수 있는 형광물질(Cy5)이 있는 프라이머를 이용하여 환자의 자궁경부 액상세포진으로부터 추출된 HPV의 유전자를 유전자 증폭하여 증폭물과 유리 슬라이드에 부착된 HPV 특이 올리고와 교잡결합을 시켜 교잡결합의 유무를 스캐너장비를

사용하여 측정한다. 교잡반응의 여부를 시각적으로 알려줌으로써 단시간에 정확하게 HPV의 감염 여부 및 유전형을 검사하게 된다. HPV DNA chip 검사 결과 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 또는 69형이 검출된 경우를 고위험군으로 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44 70형이 검출된 경우를 저위험군으로 분류하였다.

3. 클라미디아의 검출

클라미디아의 검사를 위한 자궁 경부의 가검물은 다중 polymerase chain reaction (PCR)을 사용하였는데 이는 한 염기의 차이까지 구별함으로써 매우 특이한 주형 DNA에 결합할 수 있는 Dual Secificity Oligo (DSO™, Seegene, Seoul, Korea) 시발체로 고안된 Seeplex® STD ACE Detection kit (Seegene)으로 검사하였다. 자궁경부의 점액을 깨끗이 닦고 면봉을 자궁경관 내에 넣어 회전시킨 후 질 표면과 닿지 않게 하고 면봉을 Tris buffer 0.13%와 SDS 0.4%가 포함된 검체 운송배지에 넣어 수초 동안 세게 흔든 후 면봉에 묻은 액체를 완전히 제거하였다. Sweb kit의 뚜껑을 덮은 후 6~8시간 이내에 검사실로 보내었다. PCR 검사에 사용된 유전자는 클라미디아는 *pCTT1* gene를 이용하였으며 PCR 반응을 확인하기위한 내부 대조물질은 *Arabidopsis*의 Cesa3 유전자를 사용하였다. 준비된 검체는 plugged tip을 이용하여 미리 준비한 master mix 용액이 들어 있는 PCR 용기로 옮겼다. 핵산추출방법은 boiling에 의한 방법을 사용하였으며 PCR 반응액은 시발체 p mol과 DNA 3 μL를 첨가하여 총 20 μL로 하였다. PCR 반응은 자동온도조절기 (96 well PCT200, MJ Reserch, Waltham, MA, USA)를 이용하여 94℃에서 15분간 전 변형시킨 후 94℃에서 30초 63℃에서 1분 30초, 72℃에서 1분 30초 40회 증폭하고 마지막으로 72℃에서 10분 동안 연장반응시켰다. 양성대조는 이전에 양성이 나왔던 검체의 DNA를 사용하여 매 PCR마다 검사하여 확인하였다. 각각의 증폭산물은 2% agarose gel에서 100 V로 40분간 전기영동한 후 브롬화에티디움(ethidium bromide)으로 염색하여 Image-system (ChemiDoc XRS system, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)으로 분절의 유무와 크기를 확인하였다(Fig. 1).

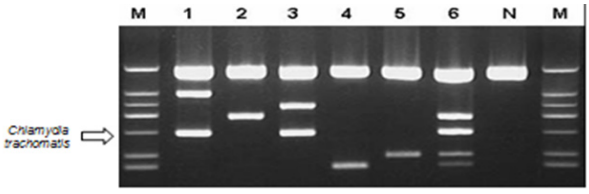

Fig. 1. Species-specific DNA amplification by multiples polymerase chain reaction in clinical specimens. M: STD6 marker: *Trichomonas vaginalis* (580 bp), *Mycoplasma hominis* (502 bp), *Ureaplasma urealyticum* (435 bp), *Chlamydia trachomatis* (348 bp), *Mycoplasma genitalium* (253 bp), *Neisseria gonorrhoeae* (214 bp). N: negative. 1~6: clinical samples.
Sample 1 *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis.*
Sample 2 *Ureaplasma urealyticum.*
Sample 3 *Mycoplasma hominis, Chlamydia trachomatis.*
Sample 4 *Neisseria gonorrhoeae.*
Sample 5 *Mycoplasma genitalium.*
Sample 6 *Ureaplasma urealyticum, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma genitalium, Neisseria gonorrhoeae.*

4. 데이터 분석

374명의 조직학적 결과를 얻은 환자들을 의무기록을 중심으로 나이, 결혼여부, 흡연, 폐경여부, 종양의 기왕력, 자궁경부 세포검사, HPV 검사, 질확대경이나 원추절제술을 통한 조직검사결과 등의 정보를 후향적으로 수집하였다. 환자의 나이와 세포진 검사결과에 따른 조직학적 결과 및 HPV DNA와 클라미디아 DNA 검출의 빈도에 관해 알아보았다. 연구결과의 통계분석은 PASW statistics for windows ver. 17.0 (PASW inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 비연속변수분석인 Pearson chi-square test를 이용하여 분석하였으며 P-value<0.05를 통계적으로 유의하다고 정의하였다.

결 과

1. 연령에 따른 비정상 자궁경부 액상 세포진검사에서 HPV DNA와 클라미디아 감염의 빈도

조직학적 진단이 된 전체 환자군인 374명을 대상으로 연구군의 연령대와 HPV DNA와 클라미디아 DNA 검출의 빈도를 보면 연구군의 평균연령과 표준편차는 39.89±10.79세이며 31세에서 40세 사이가 132예로 35.3%로 가장 높은 빈도를 보였으며, 그 다음으로는 41세에서 50세 사이가 118예로 31.6%의 빈도를 보이는 비교적 고른 분포를 보였

Table 1. Histologic diagnosis of each abnormal liquid-based cytology result

		Abnormal liquid-based cytology			Total n (%)
		ASCUS n (%)	LSIL n (%)	HSIL n (%)	
Histologic diagnosis	Within normal limits	94 (69.6)	41 (30.4)	(-)	135 (36.1)
	HPV infection	36 (70.6)	15 (29.4)	(-)	51 (13.6)
	CIN 1	16 (25.0)	48 (75.0)	(-)	64 (17.1)
	CIN 2	5 (31.3)	4 (25.0)	7 (43.8)	16 (4.3)
	CIN 3	8 (14.5)	2 (3.6)	45 (81.8)	55 (14.7)
	CIS	9 (17.0)	1 (1.9)	43 (81.1)	53 (14.2)
Total		168 (44.9)	111 (29.7)	95 (25.4)	374

ASCUS: atypical squamous cells of undetermined significance, LSIL: low-grade squamous intraepitheilal lesion, HSIL: high-grade squamous intraepitheilal lesion CIN: cervical intraepitheilal neoplasia, CIS: carcinoma in situ.

다. HPV DNA 검출은 전체 374명 중 235명에서 양성이나와 62.8% 검출률을 보였으며 클라미디아 DNA 검출은 31예로 8.3%의 검출률을 보였다. HPV 감염군은 31세에서 40세 사이에서 88예로 37.4%의 빈도를 보여 가장 많은 빈도를 보였으며 41세에서 50세 사이에서는 69예로 29.4%의 빈도를 보였다. 클라미디아 DNA 감염군은 31세에서 40세 사이가 12예로 38.7%의 가장 많은 빈도를 보이고 다음으로는 20세에서 30세 사이가 35.5%의 빈도를 보였다.

2. 연구 대상 환자의 조직학적 진단 결과

총 374명의 환자를 모두 질확대경 조준하 조직 생검이나 환상 투열요법(Loop Electrosurgical Excision Procedure, LEEP)을 이용한 원추절제술을 시행하여 각각의 조직학적 소견을 얻었다. 374명 중 정상군이 135명(36.1%), HPV DNA 감염의 소견인 koilocytosis 소견을 보인 군이 51명(13.6%), CIN 1이 64명(17.1%), CIN 2가 16명(4.3%), CIN 3가 55명(14.7%), CIS가 53명(14.2%)이었다. 조직학적 검사 결과에서 세포진검사인 liquid-based cytology 검사에서는 ASCUS였으나 HSIL 이상인 CIN 2, CIN 3, CIS 등의 고등급 병변군이 22명(5.9%) 이었으며 LSIL 군에서도 7명(1.9%)이 고등급 병변군으로 나왔다. 전체적으로는 고등급 CIN군인 CIN 2, CIN 3, CIS가 124명(33.3%)이었다. Liquid-based cytology 검사에서 HSIL로 나온 경우 조직학적 검사에서 모두 고등급군으로 CIN 2 이상의 결과를 보였다(Table 1).

3. 조직학적 결과에 따른 고위험 HPV DNA 검출과의 상관관계 및 HPV DNA 유전자형의 분포

전체 374명의 결과를 조직학적 결과에 따라 두 군으로 분류하고 이에 따른 HPV DNA 검출률를 검사하였다. 저등급군인 chronic cervicitis, koilosytosis, CIN 1군에서의 HPV DNA 검출률은 56.0% (140/250)이며 고등급군인 CIN 2, 3, CIS군에서는 124명 중 95명이 검출되어 양성률은 76.6%였다. 통계학적 분석으로 chi-square 값이 27.11, 자유도 4, 검정 유의확률인 *P*-value가 0.05 이하로 변수 간의 유의함을 알 수 있었으며 이는 자궁경부 조직학적 진단이 고등급으로 진단될수록 HPV DNA 감염의 빈도가 높음을 보여주었다. HPV DNA를 저위험군 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44형과 고위험군과 중등도의 위험군인 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 또는 69형을 검출할 수 있는 DNA 소직자(probes)를 사용하여 HPV DNA 감염을 확인한 결과 235명(62.8%)이 검출되었으며, 이 중 176명에서 고위험 HPV DNA가 검출되어 47.1% (176/374)의 양성률을 보였다. 각각의 조직학적 소견에서 고위험 HPV DNA의 검출률을 보면 정상군과 HPV DNA 감염군에서 65명(34.9%), CIN 1군에서 31명(48.4%), CIN 2군에서는 9명(56.3%), CIN 3군에서는 34명(61.8%), CIS군에서는 37명(68.9%)이었다. 통계학적 분석으로 chi-square 값이 36.63, 자유도 8, 검정유의확률인 *P*-value가 0.05 이하로 조직학적 병변의 악성도가 높을수록 고위험군의 HPV DNA 검출률이 높아지는 결과를 보였으며, 고등급

CIN군에서의 HPV DNA 검출률의 통계학적 분석은 P=0.741로 고등급군에서는 통계학적인 의미는 없었다(Table 2).

4. 자궁경부 조직학적 병변에 따른 클라미디아 감염의 연관성

전체 374명의 환자 중 클라미디아 감염은 31명으로 8.3%의 빈도를 보였으며 교차분석의 카이제곱 검증에서 통계학적으로는 유의확률이 P=0.287 (P>0.05)로 라미디아 감염과 자궁경부의 조직학적 병변의 악성도와는 상관관계가 없었으며 고등급군인 CIN 2, CIN 3, CIS군에서의 클라미디아 감염의 상관관계도 P=0.157 (P>0.05)로 통계학적 의미는 없었다(Table 3).

5. 자궁경부 조직학적 병변에 따른 HPV DNA와 클라미디아 동시감염의 연관성

전체 374명의 환자 중 HPV DNA와 클라미디아의 동시 감염군은 25명으로 6.7%의 빈도를 보였으며 HPV DNA와 클라미디아 동시 감염군과 조직학적 병변의 악성도의 상관관계는 유의확률인 P=0.089 (P≥ 0.05)로 통계학적인 유의성이 없었으며, 고등급 CIN군에서 또한 P=0.157 (P>0.05)로 통계적 유의성을 보이지 않아 HPV DNA와 클라미디아 동시 감염이 자궁경부의 조직학적 병변의 악성도와는 상관관계는 없었다(Table 4).

6. 클라미디아 감염군에서의 조직학적 분류와 HPV DNA type 분류

클라미디아 감염군 31명 중 자궁경부 액상 세포진검사 결과 ASCUS 12명, LSIL 13명, HSIL 6명이며 이들의 조직학적 분류로는 chronic cervicitis 12명, koilosytosis 3명, CIN 18명, CIN 22명, CIN 31명, CIS 5명으로 조사되었다. HPV DNA type 별로 감염군을 살펴보면 고위험군인 16, 51, 52, 56, 58 등의 감염이 21명, 저위험군 4명, 감염되지 않은 군은 6명이었으며 2종류 이상의 HPV DNA 감염이 8명이었다.

Table 2. Correlation between cytopathological results and type specific HPV DNA in abnormal cervical cytologic women

Histologic diagnosis (n)	HPV DNA		*P*-value
	HPV high-risk type n (%)	HPV low-risk type n (%)	
Within normal limits & Koilocytosis (186)	65 (34.9)	65 (34.9)	<0.01*
CIN 1 (64)	31 (48.4)	31 (48.4)	
CIN 2 (16)	9 (56.3)	9 (56.3)	0.741*
CIN 3 (55)	34 (61.8)	34 (61.8)	
CIS (53)	37 (69.8)	37 (69.8)	
Total (374)	176 (47.1)	176 (47.1)	

High risk type: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 56, 58, 59, 68. Low risk type: 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44, 70.
HPV: human papillomavirus, DNA: deoxyribonucleic acid, CIN: Cervical intraepitheilal neoplasia, CIS: carcinoma in situ.
* Pearson chi-square test.

Table 3. Correlation between cytopathological results and *C. trachomatis* DNA detection

Variables	Grade (n)	HPV/CT DNA positive (n, [%])	HPV/CT DNA negative (n, [%])	*P*-value
Histologic diagnosis	Within normal limits & Koilocytosis (186)	15 (8.1)	171 (91.9)	0.287*
	CIN 1 (64)	8 (12.5)	56 (87.5)	
	CIN 2 (16)	2 (12.5)	14 (87.5)	0.157*
	CIN 3 (55)	1 (1.8)	54 (98.2)	
	CIS (53)	5 (9.4)	48 (90.6)	
	Total (374)	31 (8.3)	343 (91.7)	

DNA: deoxyribonucleic acid, HPV: human papillomavirus, CT: *Chlamydia trachomatis*, CIN: cervical intraepithelial neoplasia, CIS: carcinoma in situ.
* Pearson chi-square test.

Table 4. Correlation between cytopathological results and HPV and *C. trachomatis* co-infection

Variables	Grade (n)	HPV/CT DNA positive n (%)	HPV/CT DNA negative n (%)	*P*-value
Histologic diagnosis	Within normal limits & Koilocytosis (186)	9 (4.8)	177 (95.2)	0.089*
	CIN 1 (64)	8 (12.5)	56 (87.5)	
	CIN 2 (16)	2 (12.5)	14 (87.5)	0.157*
	CIN 3 (55)	1 (1.8)	54 (98.2)	
	CIS (53)	5 (9.4)	48 (90.6)	
	Total (374)	25 (8.3)	349 (93.3)	

HPV: human papillomavirus, CT: *Chlamydia trachomatis*, DNA: deoxyribonucleic acid, CIN: cervical intraepithelial neoplasia, CIS: carcinoma in situ.
* Pearson chi-square test.

Table 5. The correlation between HPV and *C. trachomatis* DNA positive among women with abnormal cytology

			Chlamydia trachomatis DNA (n)		Total	*P*-value
			Negative	Positive		
HPV DNA	Negative		133	6	139	0.022*
	Positive	Low risk	55	4	59	0.195*
		High risk	155	21	176	
		Total	210	25	235	
Total			343	31	374	

HPV: human papillomavirus, DNA: deoxyribonucleic acid.
* Pearson chi-square test.

7. HPV DNA 감염과 클라미디아 감염의 상관관계

전체 374명의 환자 중 HPV DNA 감염은 235명(62.8%)이 감염되었으며 클라미디아 감염군은 31명이었다(31/374, 8.3%). HPV DNA (+)인 군에서 클라미디아 감염은 25명으로(25/248, 10.1%)의 감염률을 보인 반면 HPV DNA (-)인 군에서는 6명으로(6/126, 4.8%)의 동시 감염률을 보였다. 두 군 간의 교차분석을 실시한 결과 통계학적으로 chi-square 값은 4.59, 자유도 1, 유의확률은 P=0.022로(P<0.05) HPV DNA감염과 클라미디아 감염에는 선후 관계는 명확하지 않으나 두 군 간에 유의한 상관관계가 존재한다고 볼 수 있었다. 그러나 고위험군과 저위험군 HPV DNA 감염과 클라미디아 감염군과의 상관관계는 P=0.195로(P>0.05) 통계학적 의미는 없었다(Table 5).

8. 다중 PCR에 의한 클라미디아의 검출

이번 연구에서는 임상 검체인 자궁경부의 세포에서 추출한 DNA를 주형으로 6종류의 원인균을 검출할 수 있는 다중 PCR을 사용하였으며 그 중 클라미디아의 검출은 348 bp의 PCR 산물이 특이하게 관찰된 것을 볼 수 있었다(Fig. 1).

374명의 조직학적 결과를 얻은 환자들을 의무기록을 중심으로 조사한 결과 HPV 감염과 연구의 다른 변수인 흡연여부, 임신여부, 피임여부, sex partner 수, 폐경여부, 결혼여부 등의 단일변수의 통계학적 분석은 모두 통계적으로 유의하지 않았다.

고 찰

자궁경부암이 근래에 현저히 감소한 이유는 조기진단의 목적으로 시행한 자궁경부 세포진단이 더욱 정확해 졌으며, HPV 검사의 사용이 보편화되면서 의심스러운 환자들의 질확대경검사로 자궁경부 상피 내 종양 상태에서 진단되어 치료된 환자의 비율이 증가한 때문이다. 자궁경부 상피 내 종양은 자궁경부 상피에 국한하여 암 세포로 변화되고 있는 중간단계의 이형성(dysplastic) 세포들이 존재하는 경우를 말하는데 치료하지 않으면 침윤성 암으로 진행될 가능성을 완전히 배제할 수 없다는 사실에서 CIN 병변을 추적검사하고 적극적으로 치료하는 이론적 배경을 가지게 되었다. 또한 HPV가 자궁경부암의 주요 선행 인자임은 이미

여러 연구 결과 상세히 밝혀져 있으나 HPV 감염만이 자궁경부암의 발생의 유일한 원인이 아니며, 모든 HPV 감염환자가 반드시 자궁경부암으로 진행하지 않기 때문에 이외의 다른 인자들이 작용할 것임을 알 수 있다. 그러나 현재까지는 자궁경부의 전암성 병변 단계발생과 자궁경부암의 발생에 HPV가 가장 중요한 원인으로 자리매김하고 있다.[12,13] 자궁경부암의 1차 선별검사로서 자궁경부 세포검사를 이용해 왔으나 세포검사의 높은 위음성률로 인하여 전암단계나 자궁경부암을 간과하는 문제점들이 발생되어 여러 보조적인 검사들이 시행되고 있으며 HPV DNA의 감염여부를 검사하는 방법이 선별검사의 하나로 시행되고 있는 실정이다. 최근까지 약 100여 종의 HPV가 발견되었으며 이들 중 생식기 점막에 특정 선호를 보이는 40여 개의 유형을 임상적인 암의 진행성 여부에 따라 고위험군과 저위험군으로 분류하였으며 자궁경부 상피 내 병변이 진행되어 고등급 병변이 있을 경우 고위험 HPV의 양성률도 증가하는 것으로 알려져 있다.[14-16] HPV의 존재 및 유전형을 검사하는 방법 중, 직접 확인법으로는 liquid hybridization (hybrid capture system)과 HPV type specific probe를 이용한 dot blot hybridization, southern blot hybridization, filter in situ hybridization 등이 있고, HPV DNA의 증폭을 이용한 검사법으로는 type specific PCR, general primer PCR 등이 있다. 이 검사법들 중 Hybrid capture assay와 PCR 검사 등은 HPV DNA를 양적으로 측정할 수 있는 장점이 있다. 본 연구에서는 HPV DNA chip을 이용하여 HPV 감염과 아형을 분류하였으며 선별적인 관리와 진단 및 치료 후의 추적관찰에도 이용할 수 있었다.

지금까지 밝혀진 HPV의 발암기전으로는 HPV의 자궁경부암의 진행에 중요한 역할을 하는 HPV 유전자 내 early gene (E1-E7)과 late gene (L1-L2) 중에서 단백질인 E6, E7이며 특히 고위험 HPV의 E6 단백질은 정상 세포의 세포주기 조절 및 세포 자멸사에 중요한 역할을 하는 숙주세포의 p53, pRb (product of the retinoblastoma gene) 종양억제 단백질과 결합하여 이를 분해시키고 p53-dependent G1 세포주기조절 억제와 apoptosis의 유도를 방해하는 것으로 알려져 있다.[17,18] Early gene들이 나오면 방기저층과 중간층으로 올라오면서 소량 복제가 일어나며, 결국 가장 상층부인 표층세포 단계에서 군락을 형성하게 된다. 이곳에서 late gene에서 만들어져 capside로 싸여진 완성된 바이러스들은 탈락되어 근접 점막 혹은 타인의 점막에 감염되는데 조직학적으로 감염된 세포 핵 주면의 동공현상을 특징으로 하는 원반형 이형성의 군락이 관찰되며 이를 저등급 전암병소로 불린다. 이와 달리 유전자 중에서 바이러스 복제 및 전사활동을 조절하는 E2가 손상받아 소실되거나 끊어져 바이러스의 유전자가 숙주 유전자에 통합되면 E6, E7 단백질이 표현되고 이들이 각각 숙주 내 종양억제 유전자인 p53과 pRb를 무력화시켜 그 기능을 억제시킴과 동시에 세포증식을 유도하게 된다. 즉 고위험군의 바이러스가 이러한 기능이 훨씬 강력하여 숙주세포의 악성화가 일어나는데 이를 고등급 전암병소로 표현된다.[16,19,20]

클라미디아의 감염이 차지하는 임상적인 중요성은 매우 크다. 클라미디아는 성적 접촉으로 전파되는 질환의 가장 흔한 원인균이며 연령, 결혼유무, 흡연, 음주 외에 성 배우자의 수와 밀접한 연관성이 있다고 보고하고 있다.[21] 본 연구에서는 374명의 조직학적 결과를 얻은 환자들을 의무기록을 중심으로 조사한 결과 이번 연구의 다른 변수인 흡연여부, 임신여부, 피임여부, 결혼여부, 성 배우자의 수, 폐경여부 등의 분석은 HPV 감염과 모두 통계적으로 유의하지 않았다. 클라미디아 감염은 임상적으로 무증상이 5~50%에 이른다는 보고가 있으며 여성에서 화농성 점액분비물을 보이는 자궁경부염, 자궁외 임신, 골반염증성질환 및 불임의 주요 원인균이 되며, 산과적으로도 분만 중 신생아의 감염으로 결막염을 유발시키거나 폐렴을 발생시킨다고 알려져 있다.[4,5] 클라미디아는 세포 내 기생하는 그람음성균으로 DNA와 RNA 두 핵산을 모두 가지고 있으며 주로 원주상피나 이행상피세포를 표적으로 숙주세포의 세포질 내에 증식하는 특징을 가진다. 지금까지 알려진 클라미디아의 감염기전으로는 숙주세포의 기본소체(elementary body)의 형태로 침입하여 이 세포 내에서는 initial body로 전환한 다음 증식되어 세포 내 봉입체(inclusion body)를 형성하게 된다. 기본소체는 감염성이 있어 세포 밖으로 나와 트립신 수용체가 있는 숙주의 세포막에 부착하여 세포 안으로 들어간다. 세포 안으로 들어가는 기본체가 포식화 되면 망사체(reticulate body)로 변형되어 감염성이 없는 상태가 되기도 하나 망상체로 변형되지 않으면 세포 안에서 기생하여 세포의 포식 및 소화 기능을 방해한다. 망사체는 약 48시간 이후 RNA가 감소하고 DNA가 증가함에 따라 감염성이 있는 기본체로 성숙된다. 이는 약 72시간

내에 감염성이 최고도에 도달하여 숙주세포를 파괴하고 배출하게 된다.[22] 클라미디아의 진단에 있어 중요한 점은 검사방법과 검체의 종류이다. 세포배양법인 McCoy 세포에서 균의 배양과 분리에 의한 확인이 가장 정확한 진단법으로 특이도는 100%로 높으나 민감도는 60% 정도로 낮으며 기술이 복잡하다는 단점이 있다. 최근에는 핵산을 증폭하는 기술(Nucleic acid amplification tests)의 발달로 DNA probe를 이용한 PCR로 검출하는 방법이 임상에 적용된 이후 매우 민감한 진단법으로 인정되어 급속히 확산되었는데 성인의 자궁경부와 요도 감염의 진단에 있어 예민도와 특이도가 각각 98.4%, 99.5%를 보여 거의 완벽하게 그 유용성이 입증되었다.[23,24]

최근의 발표에 의하면 클라미디아는 항원 결정인자에 따라 혈청형에는 A, B, Ba, C, D, E, F, I, J, K, L1, L2, L3까지 있으며 이중 A, B, Ba, C는 트라코마를 유발하며 L1, L2, L3는 성병성 림프 육아종성을 유발하는 것으로 보고되고 있다. 특히 혈청형 D-K는 여성에서는 자궁경부염, 자궁내막염, 골반 내 염증을 일으키며, 특히 난관염으로 불임이나 난관임신을 유발하는 것으로 알려져 있다.[25]

클라미디아 감염은 성적으로 활발한 여성에서 유병률이 높으며 원주상피세포나 이행상피세포를 표적으로 하므로 HPV와의 연관성에 대한 여러 연구가 있었다.[26,27] 암을 유발하기 위해서는 여러 원인 및 결과가 복합적으로 일어나기 때문에 자궁경부의 클라미디아 감염 이후 HPV에 노출이 되는 것이 자궁경부암의 주요 원인이라고 주장하는 것이 합리적이지는 않을 수 있지만, HPV와 클라미디아 감염경로를 고려한다면 비정상자궁경부 세포진 검사 결과의 선, 후 관계는 놀랄만한 일은 아니다. HPV 감염여성에서 클라미디아 감염률이 높은 것은 숙주의 면역력 변화 또는 염증반응으로 인한 클라미디아 감염의 촉진 등 HPV 관련인자들에 기인한다고 가정할 수 있다.[27,28] 많은 이전연구에서 HPV 및 클라미디아 감염과 침윤성 자궁경부암의 연관성에 대해 많은 연구가 있어 왔으며, 더 나아가 클라미디아 감염의 차후의 HPV 감염의 전구인자가 될 수 있거나 공동조절인자를 가지고 있거나 그 역관계가 될 수 있다는 사실이 제시되었다. 즉 HPV의 감염은 자궁경부상피내암이나 침윤성자궁경부암의 위험요소이며 클라미디아 감염이 지속적인 자궁경부 HPV의 의미 있는 인자, 즉 숙주역의 조절요소가 된다. 이러한 감염조건은 자궁경부상피내암이나 자궁경부암을 진행시키는 일부가 된다고 알려져 있다. 이러한 기전으로 클라미디아감염과 자궁경부암의 예후와 관련이 있는 TGF-α, Ki-67, HPV 16, HPV 18와의 연관성에서 이들의 발현에 의한 자궁경부암의 진행을 분석한 보고도 있다.[29-31] 즉 HPV와 클라미디아의 감염은 연관된 관계로 일어날 때 숙주 면역반응의 조절이 일어나는데 이는 자궁경부나 질 내의 여러 결과에서 클라미디아 감염군에 HPV의 유병률이 높은 결과로 유추할 수 있다. 본 연구결과 또한 클라미디아 양성 군에서 HPV 발현이 높게 나타남을 볼 수 있었으며 두 군 간의 선후 관계는 알 수 없었지만 통계학적으로 두 군 간에 유의함을 알 수 있었다.

HPV와 클라미디아 감염의 연관성은 아직도 연구의 대상이다, 그 이유는 여러 연구에서 보고된 바와 같이 HPV와 클라미디아가 성적행동과 연관되어 서로에게 변수이자 보조인자로 작용하기 때문이며 서로 시너지 작용을 하여 자궁경부 상피 내 종양을 유발하기 때문이다. 본 연구는 후향적으로 의무기록을 통해 이루어져 HPV 감염의 다른 교란변수인 흡연, 피임, sex partner 수 등의 정확한 다변량 분석이 이루어지지 못한 점이 제한점으로 작용하지만 HPV 감염이 확립된 가운데 클라미디아 감염에 대해 다루었으며 두 감염의 인과관계를 명확히 규명하지 못하여 그 감염의 진행결과를 알 수는 없었으나, 두 감염의 선후 관계는 명확하지 않으나 통계학적으로 두 군 간에 유의한 상관관계가 존재한다고 볼 수 있었다. 또한 PCR test는 자궁경부 이형성증의 환자에서 동일 검체에서 두 감염원을 상대적으로 쉽고 경제적인 방법으로 검출해낼 수 있기 때문에 환자의 치료 및 추적관찰이 유용한 HPV DNA와 클라미디아의 진단을 PCR에 의해 좀 더 폭넓은 적용이 필요함을 본 연구를 통해 밝히는 바이다.

참고문헌

1. Cohen CR, Brunham RC. Pathogenesis of Chlamydia induced pelvic inflammatory disease. Sex Transm Infect 1999; 75: 21-4.
2. Lehmann M, Groh A, Rodel J, Nindl I, Straube E. Detection of Chlamydia trachomatis DNA in cervical samples with regard to infection by human papillomavirus. J Infect 1999; 38: 12-7.
3. Smith JS, Bosetti C, Munoz N, Herrero R, Bosch FX, Eluf-Neto J, et al. Chlamydia trachomatis and invasive cervical cancer: a pooled analysis of the IARC multicentric case-control study. Int J Cancer 2004; 111: 431-9.
4. Hwangbo HJ, Ahn JH, Jang TK, Park YK, Lee DJ, Lee SH. Clinical significance of identification of chlamydia trachomatis by polymerase chain reaction in pregnant women with preterm labor and preterm premature rupture of membrane. Korean J Obstet Gynecol 1998; 41: 1126-36.
5. Kim SH, Kim EK, Jee BC, Suh CS, Choi YM, Kim JG, et al. Prevalence of chlamydia infection in iInfertile women: application of polymerase chain reaction for detection of chlamydia trachomatis DNA. Korean J Obstet Gynecol 2000; 43: 475-80.
6. Anttila T, Saikku P, Koskela P, Bloigu A, Dillner J, Ikaheimo I, et al. Serotypes of Chlamydia trachomatis and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. JAMA 2001; 285: 47-51.
7. Claas EC, Melchers WJ, Niesters HG, van Muyden R, Stolz E, Quint WG. Infections of the cervix uteri with human papillomavirus and Chlamydia trachomatis. J Med Virol 1992; 37: 54-7.
8. Silins I, Ryd W, Strand A, Wadell G, Tornberg S, Hansson BG, et al. Chlamydia trachomatis infection and persistence of human papillomavirus. Int J Cancer 2005; 116: 110-5.
9. Silins I, Tedeschi RM, Kallings I, Dillner J. Clustering of seropositivities for sexually transmitted infections. Sex Transm Dis 2002; 29: 207-11.
10. Finan RR, Tamim H, Almawi WY. Identification of Chlamydia trachomatis DNA in human papillomavirus (HPV) positive women with normal and abnormal cytology. Arch Gynecol Obstet 2002; 266: 168-71.
11. Mitrani-Rosenbaum S, Tsvieli R, Lavie O, Boldes R, Anteby E, Shimonovitch S, et al. Simultaneous detection of three common sexually transmitted agents by polymerase chain reaction. Am J Obstet Gynecol 1994; 171: 784-90.
12. Franco EL, Rohan TE, Villa LL. Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer. J Natl Cancer Inst 1999; 91: 506-11.
13. Schiffman MH. New epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. J Natl Cancer Inst 1995; 87: 1345-7.
14. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. Virology 2004; 324: 17-27.
15. Lorincz AT, Temple GF, Kurman RJ, Jenson AB, Lancaster WD. Oncogenic association of specific human papillomavirus types with cervical neoplasia. J Natl Cancer Inst 1987; 79: 671-7.
16. Wallin KL, Wiklund F, Angstrom T, Bergman F, Stendahl U, Wadell G, et al. Type-specific persistence of human papillomavirus DNA before the development of invasive cervical cancer. N Engl J Med 1999; 341: 1633-8.
17. Dyson N, Howley PM, Munger K, Harlow E. The human papilloma virus-16 E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. Science 1989; 243: 934-7.
18. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ, Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. Cell 1990; 63: 1129-36.
19. Paquette RL, Lee YY, Wilczynski SP, Karmakar A, Kizaki M, Miller CW, et al. Mutations of p53 and human papillomavirus infection in cervical carcinoma. Cancer 1993; 72: 1272-80.
20. Werness BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. Science 1990; 248: 76-9.
21. Quinn TC, Gaydos C, Shepherd M, Bobo L, Hook EW 3rd, Viscidi R, et al. Epidemiologic and microbiologic correlates of Chlamydia trachomatis infection in sexual partnerships. JAMA 1996; 276: 1737-42.
22. Mpiga P, Ravaoarinoro M. Chlamydia trachomatis persistence: an update. Microbiol Res 2006; 161: 9-19.
23. Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. Clin Microbiol Rev 1997; 10: 160-84.
24. Miller KE. Diagnosis and treatment of Chlamydia trachomatis infection. Am Fam Physician 2006; 73: 1411-6.
25. Geisler WM, Suchland RJ, Rockey DD, Stamm WE. Epidemiology and clinical manifestations of unique Chlamydia trachomatis isolates that occupy nonfusogenic inclusions. J Infect Dis 2001; 184: 879-84.
26. Madeleine MM, Anttila T, Schwartz SM, Saikku P, Leinonen M, Carter JJ, et al. Risk of cervical cancer associated with Chlamydia trachomatis antibodies by histology, HPV type and HPV cofactors. Int J Cancer 2007; 120: 650-5.
27. Munoz N, Kato I, Bosch FX, Eluf-Neto J, De Sanjose S, Ascunce N, et al. Risk factors for HPV DNA detection in middle-aged women. Sex Transm Dis 1996; 23: 504-10.
28. Fischer N. Chlamydia trachomatis infection in cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma. Eur J Gynaecol Oncol 2002; 23: 247-50.
29. Koskela P, Anttila T, Bjorge T, Brunsvig A, Dillner J, Hakama M, et al. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. Int J Cancer 2000; 85: 35-9.
30. Samoff E, Koumans EH, Markowitz LE, Sternberg M, Sawyer MK, Swan D, et al. Association of Chlamydia trachomatis with persistence of high-risk types of human papillomavirus in a cohort of female adolescents. Am J Epidemiol 2005; 162: 668-75.
31. Tamim H, Finan RR, Sharida HE, Rashid M, Almawi WY. Cervicovaginal coinfections with human papillomavirus and Chlamydia trachomatis. Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 43: 277-81.

= 국문초록 =

목적: 본 연구는 human papillomavirus (HPV) 감염과 클라미디아 감염이 자궁경부 이형성에 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

연구 방법: 자궁경부 액상세포진 검사에서 비정상으로 진단된 환자 374명을 대상으로 조직학적 검사와 HPV 및 클라미디아 감염의 상관관계를 연구하였다.

결과: 조직학적 검사결과 cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 2가 16명, CIN 3가 55명, carcinoma in situ (CIS)가 53명이었으며 액상 세포진 검사에서는 atypical squamous cells of undetermined significance였으나 high-grade squamous intraepithelial lesions 이상인 고등급 병변이 22명이었으며, low-grade squamous intraepithelial lesions군에서도 7명이 고등급 병변으로 판정되었다. HPV 감염군은 235명이고 클라미디아 감염군은 31명(8.3%)이며, 두 군의 동시감염은 25명(6.7%)의 빈도를 보였으며 동시 감염군과 조직학적 병변의 악성도의 상관관계는 없었다(P=0.089). HPV 감염과 클라미디아 감염에는 선후 관계는 명확하지 않으나 P=0.022로 두 군 간에 유의한 상관관계가 존재한다고 볼 수 있다. 고등급 CIN군만을 대상으로 HPV 및 클라미디아 감염의 통계적 유의성은 P=0.157로 통계적 유의성은 없었으며, 고위험 HPV 감염과 클라미디아 감염 또한 P=0.195로 통계적 상관관계는 없었다.

결론: 자궁경부 상피내 종양 환자에서 HPV 감염은 그 역할이 널리 알려져 있으나 클라미디아 감염과의 연관성에 대해서는 아직 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

중심단어: 자궁경부 이형성, 인유두종 바이러스, 클라미디아 트라코마티스, 자궁경부 액상세포진검사