

□ 원 저 □

폐암에서 혈중 Cytokeratin 8, 18, 19의 진단적 가치

서울대학교 의과대학 내과학교실 및 의학연구원 폐연구소

최창민, 김우진, 오진영, 강영애, 유철규
이춘택, 김영환, 한성구, 심영수

=Abstract=

Diagnostic Value of Serum Cytokeratin 8, 18 and 19 in Lung Cancer

Chang Min Choi, M.D., Woo Jin Kim, M.D., Jin Young Oh, M.D.,
Young Ae Kang, M.D., Chul Gyu Yoo, M.D., Choon Taek Lee, M.D.,
Young Whan Kim, M.D., Sung Koo Han, M.D., Young-Soo Shim, M.D.

*Department of Internal Medicine, Lung Institute of Medical Research Center,
Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea*

Background : Monoclonal antibodies directed against well-known epitopes on cytokeratin (CK) 8, 18 and 19 (Monototal) have been used in the development of a new diagnostic tool for lung cancer. In the mid-1990s, CK 19 fragments (Cyfra 21-1) became popular and widely used for such diagnosis. This is the first study specifically designed to compare these two markers.

Method : The serum levels of CK 8, 18 and 19 were measured using two-site monoclonal/polyclonal immunoradiometric assay kit in 57 healthy adults and 289 patients who were admitted to Seoul National University Hospital from May to September, 2002. The lung cancer group comprised 129 primary lung cancer patients: 116 with non-small cell lung cancer(NSCLC) and 13 with small cell lung cancer (SCLC). The control group comprised 160 non-malignant pulmonary lung disease patients and 57 healthy adults. A total of 166 twin Monototal and Cyfra 21-1 serum assays were obtained; 76 with lung cancer, 70 with non-malignant pulmonary lung disease and 20 healthy adults.

Results : The mean serum value of Monototal was 412.47 ± 455.45 U/L in NSCLC, 237.08 ± 145.15 U/L in SCLC, 126.54 ± 95.72 U/L in non-malignant pulmonary lung disease, and 63.68 ± 31.66 U/L in healthy adults. The serum values of the lung cancer groups were significantly higher than those of the control

Address for Correspondence :

Young Whan Kim, M.D.

Department of Internal Medicine and Lung Institute of Medical Research Center,
Seoul National University College of Medicine

28 Yongon-Dong, Chongno-Gu, Seoul 110-774, South Korea

Phone : 02-760-2856 Fax : 02-762-9662 E-mail : ywkim@snu.ac.kr

group ($p<0.01$). Using a cut off value of 188U/L, sensitivity and specificity was 66.4% and 81.9% in NSCLC, and 43.8% and 81.9% in SCLC, respectively. The serum levels of CK 8, 18 and 19 were higher in advanced NSCLC than in early stage disease.

Conclusion : The serum levels of CK 8, 18 and 19 may be useful in the diagnosis of NSCLC. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2003, 55:388-394)

Key words : Cytokeratin, CYFRA 21-1, Tumor marker, Lung cancer.

서 론

현재 폐암은 남녀 모두에서 암사망의 주요원인으로 조기진단에 대한 시도가 많이 이루어졌으나 아직까지 유용한 방법이 정립되지 못하고 있다. 예후가 좋지 않고 치료 실패가 흔한 폐암에 대한 이상적인 종양 표지자가 있다면 폐암의 유무를 판정하고 종양의 크기를 반영하며 치료의 효과를 판정할 수 있다. 지금까지 편평세포암 항원 (SCC Ag, squamous cell carcinoma antigen), 암태아성 항원 (CEA), 신경원 특이성 에놀라제(NSE), cytokeratin 등이 있으며 이들에 대한 폐암의 진단 및 치료과정의 가치에 대한 연구가 많이 이루어졌다¹⁻⁵.

여러 폐암의 표지자에 대한 연구를 통해 지금까지 폐암에서 cytokeratin (CK) 19를 면역방사선계수법으로 측정하는 Cyfra 21-1이 비소세포폐암의 진단에 유용한 것으로 보고 되고 있다⁶⁻⁹. 세포의 CK는 조직에 특이성이 있으며 현재 20여가지의 CK가 밝혀졌다. 이중 CK 19는 기관지의 단층상피같은 단순상피세포에서 발현되는 단백질로 폐암에 풍부하게 나타나며 현재 임상적으로 많이 이용되고 있다⁷. 최근에는 CK 19뿐만 아니라 폐암에서 많이 발견되는 CK 8, 18에 대해 특이적인 세가지 단클론항체를 이용한 면역방사선계수법(MonoTotal™)이 개발되어 폐암의 진단에 이용할 수 있는 것으로 보고되었다¹⁰. 따라서 저자들은 Cyfra 21-1에 비교하여 CK 8, 18, 19의 폐암표지자로서의 진단적 가치에 대해 연구하였다

대상 및 방법

1. 대 상

2002년 5월 1일부터 2002년 9월 30일까지 서울대학교병원 내과에 입원하여 기관지내시경 또는 객담도말세포검사, 경피적 조직생검으로 확진된 원발성 폐암환자 129명을 폐암군으로 하고 폐암이 배제된 비악성 호흡기 질환자 160명을 환자 대조군으로 연구에 동의한 건강한 성인 57명을 정상 대조군으로 하여 본 연구를 시행하였다(Table 1).

폐암군은 비소세포폐암이 116명(평균상피암 43명, 선암 34명, 조직이 정해지지 않은 비소세포암 39명)이고 소세포폐암이 13명이었다. 비소세포폐암군의 평균 연령은 62.7세 였으며 소세포폐암군의 평균 연령은 64.0세 였고 환자 대조군은 54.7세, 정상 대조군은 25.3세였다(Table 1). 환자 대조군은 결핵 68명, 폐렴 22명, 고립성폐결절 16명, 만성폐쇄성폐질환 12명, 미만성간질성폐질환 11명, 객혈 10명, 기타 21명이었다.

Monototal은 129명의 폐암군과 환자대조군 160명, 정상 대조군 57명 모두에게서 혈청을 채혈하여 측정하였다. Monototal과의 비교를 위해서 Cyfra 21-1은 폐암군 129명중에서 76명(비소세포폐암 68명, 소세포폐암 8명)에서 측정하였으며 환자 대조군은 160명중에서 70명, 정상 대조군은 57명중에서 20명을 대상으로 측정하였다.

병기는 International Staging System에 의한

Table 1. Patient characteristics

		Healthy control	Patient control	Lung cancer	
				NSCLC	SCLC
Gender	Male	40	94	89	9
	Female	17	66	27	4
	Total	57	160	116	13
Age					
	year \pm SD	25.3 \pm 5.6	54.7 \pm 15.4	62.7 \pm 10.0	64.0 \pm 9.8

NSCLC : non-small cell lung cancer, SCLC : small cell lung cancer

TNM병기에 따랐으며 이학적 검사, 흉부방사선 검사, 기관지내시경, 흉부 전산화 단층촬영, 전신골주사등을 시행하여 구분하였다. 병기는 stage I이 21명, II가 11명, III가 40명, IV가 44명이었다.

2. 방 법

대상자로부터 혈액을 채취하여 혈청을 분리하였으며 시료는 검사할 때까지영하 70℃에서 보관하였다. Cyfra 21-1의 측정은 Fujibebio Diagnostics사(USA)의 immnoradiometric assay kit인 CyfraTM 21-1을 사용하였다. 이 방법은 쥐의 두가지 단일클론항체인 BM 19-21과 KS 19-1을 이용하여 측정하는 것으로 Cyfra 21-1의 단일클론항체로 코팅된 ELISA 튜브에 100ul의 환자 혈청을 넣고 Iodine¹²⁵로 표지된 Cyfra 21-1항체 100ul를 첨가하였다. 2-8℃에서 20시간동안 보온시킨 후 감마계수기로 방사능을 측정하여 측정된 방사능에 비례하는 CK 19의 농도를 ng/ml로 산출하였다. CK 8, 18, 19의 측정은 IDL biotech사의 2-hour immunoradiometric sandwich test kit인 MonototalTM을 사용하였다. 이 방법은 CK 8, 18, 19와 반응하는 단일클론항체 100ul의 환자 혈청을 넣었다. 이후 Iodine¹²⁵로 표지된 항체 100ul를 첨가하였다. 2시간동안 400rpm정도로 흔들어 준 후 세척하였다. 감마계수기로 방사

능을 측정하여 측정된 방사능에 비례하는 CK 8, 18, 19의 농도를 U/l로 산출하였다. Cyfra 21-1과 Monototal의 정상범위는 건강한 대조군의 가장 높은 수치를 가지고 산출하였다.

통계처리는 SPSS 11.0프로그램을 이용하였고 각 군간의 비교는 ANOVA를 사용하였다.

결 과

폐암의 조직학적 분류에 따른 Monototal의 혈중 평균치(mean \pm SD)는 비소세포폐암이 412.47 \pm 455.45 U/L, 소세포폐암이 237.08 \pm 145.15 U/L로 환자 대조군 126.54 \pm 95.72 U/L, 정상 대조군 63.68 \pm 31.66 U/L에 비해 유의하게 증가되어 있었다(p<0.01)(Table 2). Cyfra 21-1의 혈중 평균치(mean \pm SD)는 비소세포폐암이 8.96 \pm 11.57 ng/ml, 소세포폐암이 3.21 \pm 1.86 ng/ml로 환자 대조군 1.67 \pm 1.03 ng/ml, 정상 대조군 0.95 \pm 0.64 ng/ml에 비해 유의하게 증가되어 있었다(p<0.01)(Table 2).

Cyfra 21-1의 정상범위를 정상 대조군의 가장 높은 수치인 2.4ng/ml 이내로 하였을때 비소세포폐암의 민감도는 67.6%, 특이도는 81.4%였고 소세포폐암의 경우에는 민감도는 50.0%, 특이도는 81.4%였다(Table 3). Monototal의 정상범위를 정상 대조군의 가장 높은 수치인 188U/L 이내로 하였을

Table 2. Cyfra 21-1 and monototal levels

		Healthy control	Patient control	Lung cancer	
				NSCLC	SCLC
Cyfra 21-1	ng/ml	0.95±0.64	1.67±1.03	8.96±11.57*	3.21±1.86*
Monototal	U/L	63.68±31.66	126.54±95.72	412.47±455.45*	237.08±145.15*

Values are mean±SD

*p<0.01 compared with controls.

Table 3. Sensitivity and specificity of cyfra 21-1 and monototal levels according to histologic type of lung cancer

		NSCLC	SCLC
Cyfra 21-1	Sensitivity(%)	67.6	50.0
	Specificity(%)	81.4	81.4
Monototal	Sensitivity(%)	66.4	43.8
	Specificity(%)	81.9	81.9

Cyfra 21-1 cut off value : 2.4mg/ml

Monototal cut off value : 188U/L

Table 4. Monototal levels according to underlying disease of patient control group

		Tbc (n=68)	Pneumonia (n=22)	SPN (n=16)	COPD (n=12)	DILD (n=11)	Hemoptysis (n=10)	Etc (n=21)
Monototal	U/L	112.09 ±65.99	112.09 ±65.99	142.95 ±91.88	152.50 ±89.50	298.73 ±209.97*	96.20 ±36.60	83.81 ±25.35

Values are mean±SD

*p<0.001(ANOVA)

때 비소세포폐암의 민감도는 66.4%, 특이도는 81.9%였고 소세포폐암의 경우에는 민감도는 43.8%, 특이도는 81.9%였다(Table 3).

병기를 I,II군(32명)과 III,IV군(84명)의 두 군으로 나누어 Monototal의 평균을 비교해 보았을 때 각각 227.6±185.2 U/L, 482.9±506.4 U/L로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다(p<0.001). 환자대조군 세부질환별로 Monototal의 평균치를 보면 미만성폐질환 환자군(11명)에서 298.7±210.0 U/L로 환자 대조군 평균치인 126.54±95.72 U/L에 비해 통계적으로 유의하게 높게 측정되었다(p<0.001)

(Table 4).

Cyfra 21-1과 Monototal의 상관관계를 살펴보기 위해 두 종양표지자를 모두 측정한 76명을 대상으로 산포도를 작성하였을 때 상관계수가 0.809로 강한 양의 상관관계를 보였으며 유의수준 0.01에서 통계적으로 매우 유의하였다.

고 찰

현재 폐암은 남녀 모두에서 암사망의 주요원인으로 저용량전산화단층촬영, 객담도말세포검정사, 기관지

내시경등으로 조기진단에 대한 시도가 많이 이루어졌으나 아직까지 유용한 방법이 정립되지 못하고 있다. 지금까지 폐암의 종양표지자로 알려진 것으로는 편평세포암 항원 (SCC Ag, squamous cell carcinoma antigen), 암태아성 항원(CEA), 신경원 특이성 에놀라제(NSE), cytokeratin 등이 있으며 이들에 대한 폐암의 진단 및 치료과정의 가치에 대한 연구가 많이 이루어졌다¹⁻⁵.

여러 폐암의 표지자에 대한 연구를 통해 지금까지 폐암에서 CK 19를 면역방사선계수법으로 측정하는 Cyfra 21-1이 비소세포폐암의 진단에 유용한 것으로 보고 되고 있다⁶⁻⁹. 세포의 CK는 조직에 특이성이 있으며 현재 20여가지의 CK가 밝혀졌다¹¹. 이중 CK 19는 기관지의 단층상피 같은 단순상피세포에서 발현되는 단백질로 폐암에 풍부하게 나타나 현재 임상적으로 많이 이용되고 있다⁷. 종양 및 정상조직의 괴사 및 세포 파괴에 의해 혈액내로 CK 19 fragment의 방출이 이루어져 폐암에서 높게 측정된다고 알려져 있다¹². 최근에는 이런 CK 19뿐만 아니라 폐암에서 많이 발견되는 CK 8, 18에 대해 특이적인 세가지 단클론항체를 이용한 면역방사선계수법 kit(MonoTotalTM)가 개발되어 폐암의 진단에 이용할 수 있는 것으로 보고되었다¹⁰.

본 연구에서는 Monototal의 임상적 유용성을 알아보기 위해 폐암군과 환자 대조군을 대상으로 여러 종양 표지자중에 기존에 알려진 Cyfra 21-1의 양성율과 비교하였다.

Karnak 등에 의하면 비소세포폐암에서 민감도는 65.5%로 보고 하였고 특히 상피세포암에서는 70.5%로 보고 하였으며 병기가 증가할수록 민감도가 증가하는 것으로 보고하였다⁷. 본 연구에서도 Cyfra 21-1의 민감도는 67.6%, 특이도는 81.4%였고 소세포폐암의 경우에는 민감도는 50.0%, 특이도는 81.4%로 이전 연구와 비슷한 결과를 보여 주었다. Cytokeratin 8, 18, 19를 측정할 수 있는

Monototal의 경우에는 아직 까지 발표된 논문은 없는 상태지만 학회에 Fristedt Lejnell 등이 보고한 바에 따르면 민감도가 94%, 특이도가 95%라고 보고하고 있다. 하지만 이 연구는 정상인과 폐암군을 비교하였고 정상범위도 정상인의 최고치인 60U/L를 잡아 정상치에 대한 명확한 근거를 제시하지 못한 단점이 있다¹⁰. 본 연구에서 측정된 바에 의하면 Monototal을 정상 대조군에서 측정하였을 때 가장 높은 값이 188U/L로 나와 Fristedt Lejnell 등의 연구와는 많은 차이를 보여수었다. 본 연구에서는 Monototal의 비소세포폐암의 민감도가 66.4%, 특이도는 81.9%였고 소세포폐암의 경우에는 민감도는 43.8%, 특이도는 81.9%로 Cyfra 21-1과 비슷한 정도의 수치를 보여주고 있다. 또한 Cyfra와 Monototal의 측정값의 상관관계를 보았을 때 상관계수가 0.809로 강한 양의 상관관계를 보여주고 있었다. 이는 Monototal이 cytokeratin 19이외에 cytokeratin 8, 18을 동시에 측정하기 때문인 것으로 생각된다.

이미 많은 연구에서 암병기가 진행함에 따라 Cyfra 21-1의 양성율 및 측정값의 증가함을 보고 하였고¹³ 본 연구에서도 병기가 증가함에 따라 측정값이 통계적으로 유의하게 증가함을 알 수 있다. 이에 따라 비소세포암에서 종양표지자가 치료의 경과를 예측하고 재발 및 예후를 판정하는데 효과적이라는 보고도 있다⁹.

Cyfra 21-1은 주로 비소세포폐암에서 증가하는 것으로 알려져 있으며 소세포폐암에서는 민감도가 떨어지는 것으로 되어있다. 하지만 기존의 다른 연구보다 소세포폐암의 민감도가 50.0%, 43.8%로 높게 측정이 되었는데 이는 상당수의 소세포암에서 일부 상피세포의 분화가 동반된 폐암의 이질성(heterogeneity)과 연관이 있을 것으로 보고하고 있다^{14 16}.

본 연구에서 환자대조군중에서 특히 미만성간질성폐질환의 Monototal이 298.7 ± 210.0 U/L로 환자

대조군 평균치인 126.54 ± 95.72 U/L보다 높게 나왔다. 이는 이미 비악성 호흡기 질환에서 cytokeratin 19의 수치가 특발성폐섬유증(IPF)에서 높게 나온다는 기존의 보고와 부합되는 소견이다⁸. Nakamura 등은 비악성 호흡기 질환 환자 413명을 질병별로 분류하여 CK 19를 측정하여 평균치를 비교한 연구에서 특발성폐섬유증에서는 30 명중에 13명(43.3%)이 3.5ng/ml 이상 증가한 소견을 보여 본 연구와 동일한 결과를 보여 주고 있다⁸. CK 19는 정상조직의 상피세포에도 존재하기 때문에 상피세포의 손상이 있는 질환에서는 혈액내로 CK 19 fragment의 방출이 이루어질 수 있는 것으로 알려져 있고 Nakamura 등도 면역조직화학검사에서 특발성폐섬유증 환자에서 상피조직의 재생부위에서 CK 19가 증가하는 것을 알 수 있었다.

결론적으로 cytokeratin 8, 18, 19의 측정은 폐암의 대표적인 종양 표지자중의 하나인 Cyfra 21-1과 비슷한 민감도와 특이도를 보이고 있어 효과적인 종양표지자로 앞으로 사용될 수 있다.

요 약

배 경 :

지금까지 폐암의 종양표지자로 알려진 것들 중에 최근에는 CK 19뿐만 아니라 폐암에서 많이 발견되는 CK 8, 18에 대해 특이적인 세가지 단클론항체를 이용한 면역방사선계수법(MonoTotal™)이 개발되어 폐암의 진단에 이용할 수 있는 것으로 보고되었다. 따라서 저자들은 Cyfra 21-1에 비교하여 CK 8, 18, 19의 폐암표지자로서의 진단적 가치에 대해 연구하였다

대상 및 방법 :

2002년 5월 1일부터 2002년 9월 30일까지 서울대학교병원 내과에 입원하여 기관지내시경 또는 객담도말세포검사, 경피적 조직생검으로 확진된 원발성 폐암환자 129명을 폐암군으로 하고 폐암이 배

제된 비악성 호흡기 질환자 160명을 환자 대조군으로 연구에 동의한 건강한 성인 57명을 정상 대조군으로 하여 본 연구를 시행하였다. Cyfra 21-1의 측정은 Fujibebio Diagnostics사(USA)의 immunoradiometric assay kit인 Cyfra™ 21-1을 사용하였고 CK 8, 18, 19의 측정은 IDL biotech사의 2-hour immunoradiometric sandwich test kit인 Monototal™을 사용하였다.

결 과 :

폐암의 조직학적 분류에 따른 Monototal의 혈중 평균치(mean±SD)는 비소세포폐암이 412.47 ± 455.45 U/L, 소세포폐암이 237.08 ± 145.15 U/L로 환자 대조군 126.54 ± 95.72 U/L, 정상 대조군 63.68 ± 31.66 U/L에 비해 유의하게 증가되어 있었다($p < 0.01$). Monototal의 정상범위를 정상 대조군의 가장 높은 수치인 188U/L 이내로 하였을 때 비소세포폐암의 민감도는 66.4%, 특이도는 81.9%였다.

병기를 I,II군(32명)과 III,IV군(84명)의 두 군으로 나누어 Monototal의 평균을 비교해 보았을 때 각각 227.6 ± 185.2 U/L, 482.9 ± 506.4 U/L로 두 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.001$). 환자대조군 세부질환별로 Monototal의 평균치를 보면 미만성폐질환 환자군(11명)에서 298.7 ± 210.0 U/L로 환자 대조군 평균치인 126.54 ± 95.72 U/L에 비해 통계적으로 유의하게 높게 측정되었다($p < 0.001$)(Table 4).

결 론 :

cytokeratin 8, 18, 19의 측정은 폐암의 대표적인 종양 표지자중의 하나인 Cyfra 21-1과 비슷한 민감도와 특이도를 보이고 있어 효과적인 종양표지자로 앞으로 사용될 수 있다.

참 고 문 헌

1. Bates SE. Clinical applications of serum tumor markers. Ann Intern Med 1991;115:

- 623-38
2. Buccheri G, Ferrigno D. Lung tumor markers of cytokeratin origin: an overview. *Lung Cancer* 2001; 34 Suppl 2:S65-9
3. Body JJ, Sculier JP, Raymakers N, Paesmans M, Ravez P, Libert P, et al. Evaluation of squamous cell carcinoma antigen as a new marker for lung cancer. *Cancer* 1990;65: 1552-6
4. Buccheri G, Ferrigno D. Usefulness of tissue polypeptide antigen in staging, monitoring, and prognosis of lung cancer. *Chest* 1988; 93:565-70
5. Sculier JP, Body JJ, Jacobowitz D, Fruhling J. Value of CEA determination in biological fluids and tissues. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987;23:1091-3
6. Buccheri G, Torchio P, Ferrigno D. Clinical Equivalence of Two Cytokeratin Markers in Non-small Cell Lung Cancer: A Study of Tissue Polypeptide Antigen and Cytokeratin 19 Fragments. *Chest* 2003;124:622-32
7. Karnak D, Ulubay G, Kayacan O, Beder S, Ibis E, Oflaz G. Evaluation of Cyfra 21-1: a potential tumor marker for non-small cell lung carcinomas. *Lung* 2001;179:57-65
8. Nakayama M, Satoh H, Ishikawa H, Fujiwara M, Kamma H, Ohtsuka M, et al. Cytokeratin 19 fragment in patients with nonmalignant respiratory diseases. *Chest* 2003;123:2001-6
9. Reinmuth N, Brandt B, Semik M, Kunze WP, Achatzy R, Scheld HH, et al. Prognostic impact of Cyfra21-1 and other serum markers in completely resected non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2002;36:265-70
10. Fristedt L, Bergqvist M, Brattstrom D, Brodin O, Wagenius G, Wiklund B. Cytokeratin 8, 18 and 19 monoclonal antibodies used in diagnosis and follow-up studies of lung carcinoma patients. not published
11. Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982;31:11-24
12. Wieskopf B, Demangeat C, Purohit A, Stenger R, Gries P, Kreisman H, et al. Cyfra 21-1 as a biologic marker of non-small cell lung cancer. Evaluation of sensitivity, specificity, and prognostic role. *Chest* 1995; 108:163-9
13. Sugama Y, Kitamura S, Kawai T, Ohkubo A, Hasegawa S, Kuriyama T, et al. Clinical usefulness of CYFRA assay in diagnosing lung cancer: measurement of serum cytokeratin fragment. *Jpn J Cancer Res* 1994;85: 1178-84
14. Park HD, Jeong HS, Park JS, Lim SH, Lee EJ, Yun JW, et al. Usefulness of cyfra 21-1 as a tumor marker of lung cancer. *Korean J Med* 2002; 62:415-21
15. Pujol JL, Grenier J, Daures JP, Daver A, Pujol H, Michel FB. Serum fragment of cytokeratin subunit 19 measured by CYFRA 21-1 immunoradiometric assay as a marker of lung cancer. *Cancer Res* 1993;53:61-6
16. Stieber P, Hasholzner U, Bodenmuller H, Nagel D, Sunder-Plassmann L, Dienemann H, et al. CYFRA 21-1. A new marker in lung cancer. *Cancer* 1993;72:707-13