

삼출성 흉수에서 악성 감별을 위한 MAGE 유전자 검출의 의의

계명대학교 의과대학 내과학교실, 면역학교실*,
대구카톨릭대학교 의과대학 임상병리학교실†

김경찬, 서창균, 박순호, 최원일,
한승범, 전영준, 박종욱*, 전창호†

=Abstract=

Diagnostic Utility of MAGE Expression in Exudative Pleural Effusion

Kyung Chan Kim, M.D., Chang Gyun Seo, M.D., Sun Hyo Park, M.D.,
Won-Il Choi, M.D., Seung Beom Han, M.D., Young June Jeon, M.D.,
Jong-Wook Park, M.D.*, Chang-Ho Jeon, M.D.†

Departments of Internal Medicine and Immunology*, Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea,
Department of Laboratory Medicine, School of Medicine, Catholic University of Daegu, Daegu, Korea†

Background : In recent years, numerous human tumor specific antigens such as melanoma antigen gene(MAGE) that is recognized by autologous cytotoxic T lymphocytes have been identified. MAGE is expressed in many human malignancies in various organs, such as lung, breast, stomach, esophagus and leukemia. Therefore MAGE has been studied widely for tumor diagnosis and immunotherapy. But, so far there were no clinical studies evaluating the role of MAGE in pleural effusion. We investigated the expression of MAGE in the patients with exudative pleural effusion for it's diagnostic utility and the results were compared with those of cytologic examinations.

Methods : Diagnostic thoracentesis was performed in 44 consecutive patients with exudative pleural effusion during 6 months. We examined the expression of MAGE and cytology with the obtained pleural effusion. Expression of MAGE was interpreted by means of a commercial kit using RT-PCR method. Enrolled patients were divided into two groups such as malignant and benign and we analyzed its' sensitivity and specificity.

Results : There were no significant differences between two groups in age, sex, white blood cell counts in pleural fluid, pleural fluid/serum protein ratio and pleural fluid/serum LDH ratio. The

Address for correspondence:

Young June Jeon, M.D.

Department of Internal Medicine, Keimyung University School of Medicine
194, Dongsan-dong, Jung-gu, Daegu, 700-442, Korea
Phone : 053-250-7406 Fax : 053-250-7434 E-mail : jeon425@dsmc.or.kr

sensitivity and specificity of MAGE were 72.2% and 96.2% respectively and the positive predictive value and negative predictive value of MAGE were also 92.9% and 83.3% respectively. The sensitivity and negative predictive value of cytologic examinations were 66.7% and 81.3% respectively. There were no significant differences between sensitivities of MAGE and cytologic examinations but false positive result of MAGE was found in 1 case of tuberculous pleurisy.

Conclusion : MAGE is a sensitive and specific marker for the differential diagnosis between benign and malignant effusion in patients with exudative pleural effusion. And MAGE would provide the equal sensitivity compared with that of cytologic examination in patients with malignant pleural effusion if 5mL of the pleural fluid is examined. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2004, 56:159-168)

Key words : MAGE, Cytology, Pleural effusion, Sensitivity, Specificity.

서 론

흉수를 가진 환자들에서 흉수의 발생 원인을 밝히기 위하여 다양한 검사가 필요하다. 흉부 X-선 촬영을 시행한 뒤 흉수 천자를 시행하여 삼출성 또는 여출성 여부를 알아내어 삼출성인 경우 악성 흉수와의 감별이 중요하므로 이를 확인하기 위하여 흉수 내 세포검사(cytology)를 시행하지만 병리 의사의 숙련도에 따라 악성 흉수의 진단율이 크게 차이가 날 수 있다¹. 그리고 서구와 달리 결핵성 흉막염이 많은 우리나라에서는 림프구가 우세한 삼출액을 보이는 경우 악성과의 감별이 어려우므로 경피적 흉막 조직 검사나 흉강경을 이용한 흉막 생검을 시행해야 하는데, 이러한 검사들은 침습적이어서 환자의 전신상태가 불량한 경우 시행하지 못하는 경우가 많으므로 제한점을 가지고 있다. 그래서 흉수 내에서 carcinoembryonic antigen(이하 CEA로 약칭함), CYFRA 21-1 등 종양 표지자들을 측정하여 손쉽게 악성과의 감별하려는 연구들이 시도되었으나 민감도와 특이도가 낮아서 임상적으로 이용하기에는 미흡하였다²⁻⁴.

그런데 최근 암에서 발현되는 다양한 종류의 종양특이항원(tumor specific antigen)들이 밝혀지고

있다. Melanoma antigen gene(이하 MAGE로 약칭함)에 의해 발현되는 항원들이 대표적인 예인데, MAGE는 세포독성(cytotoxic) T 림프구에 특이적으로 반응하는 항원들을 발현하기 때문에 이를 종양의 진단과 치료에 이용하려는 연구가 시도되었다^{5,6}. MAGE 유전자의 발현은 정상 조직인 경우 고환이나 태반 등을 제외하고는 발견되는 경우가 없는 것으로 알려져 있다^{5,7}. 이에 반해 종양에서는 악성 흑색종뿐만 아니라 폐암, 두경부암, 방광암, 유방암, 난소암, 자궁경부암, 위암, 간암, 식도암, 일부 백혈병 등의 대부분의 암에서 발현됨이 여러 연구를 통해 밝혀졌다⁷⁻¹⁴. 따라서 이러한 우수한 종양 특이성을 이용하여 MAGE 유전자의 발현을 암의 진단에 중요한 표지자로서 이용하려는 연구가 진행되고 있다^{6,15}. 그러나 고형암이나 혈액암에서 MAGE를 진단에 이용한 연구는 있었으나 흉수를 대상으로 한 연구는 아직 없었다.

이번 연구는 삼출성 흉수를 가진 환자에서 MAGE 유전자의 발현 여부를 검사하여 양성으로 악성의 감별진단에 도움이 되는지를 알아보고 그 결과를 악성 흉수를 진단하는데 표준 검사로 알려져 있는 세포검사 결과와 비교해 보기 위하여 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

2002년 1월 1일부터 동년 6월 30일까지 계명의대 부속 동산의료원 호흡기 내과에 입원한 환자들 중에서 삼출성 흉수를 가진 44명을 대상으로 하였다. 처음 46명의 환자들을 등록하였으나 2명을 제외시킨 44명을 대상으로 검사를 시행하였다. 제외시킨 원인은 검체 분실 1례, 측정 실패 1례 등이었다. 그리고 환자 또는 보호자의 동의를 받은 후 검사를 시행하였다.

2. 방 법

입원한 환자들 중에서 흉수를 가진 경우 입원 당일 진단적 천자를 시행하였고 삼출성 흉수임을 확인한 환자들을 대상으로 등록하였다. 대상으로 등록된 환자들은 진단적 천자 2일 이내 다시 천자

를 시행하여 10 mL의 흉수를 채취하였고 각각 5 mL씩 나누어 세포검사와 MAGE 유전자 검사를 시행하였다. 특히 MAGE 검사의 경우 검체를 얻은 후 1시간 이내 보존액으로 처리하였으며 MAGE 유전자의 발현 유무는 Cancer Hunter Lung Kit(iC&G Com. Daegu, Korea)를 사용하여 확인하였다. 이 commercial kit를 이용하면 MAGE-1, -2, -3, -4a, -4b, -5a, -5b, -6 (MAGE 1-6)등의 아형 항원들의 발현을 동시에 검출할 수 있다. 처리 방법은 천자를 통하여 얻은 삼출성 흉수를 원심하여 상층을 제거한 후 kit 사용법에 따라 PGI(phenol-guanidine isothiocyanate) solution을 이용하여 total RNA를 추출하였고, 이를 single nested RT-PCR(reverse transcription-polymerase chain reaction)법을 사용하여 MAGE 유전자의 발현 여부를 양성과 음성으로 판정하였다(Fig. 1). 단, trace로 나온 경우는 음성으로 판정하였다. 등록된 환자들은 아래의 기준을 통하여 각각 양성 및 음성군으로 판정하여 나누었으며 6개월간 추적 관

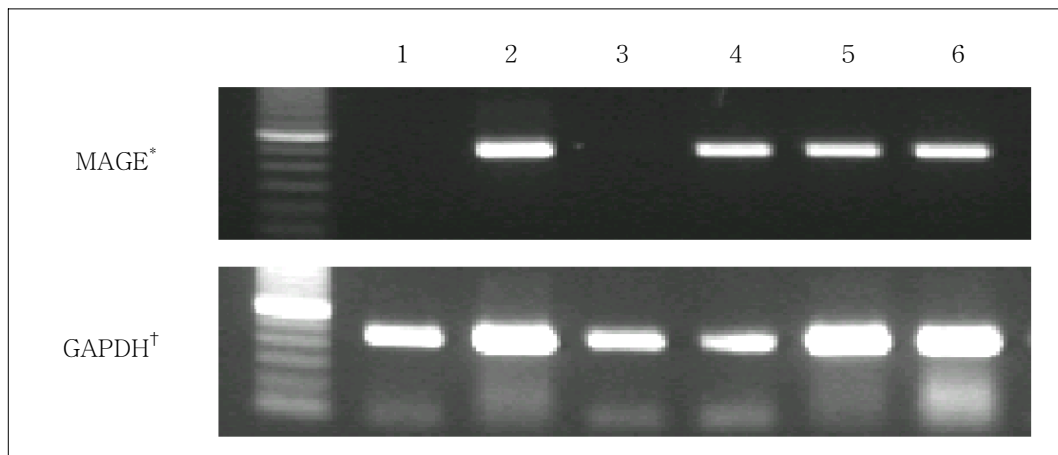


Fig. 1. Detection of MAGE 1-6 mRNA by single nested RT-PCR. Lane 1, negative control (PBS containing SNU638 cells, 100 cells/10 mL); lane 2, positive control (PBS containing SNU484, 100 cells/10 mL); lane 3, pleural fluid of patient with benign lung disease; lane 4, 5 and 6, pleural fluid of lung cancer patients.

MAGE* : melanoma antigen gene

GAPDH* : glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, Internal standard

찰을 통하여 처음 판정한 결과를 임상적으로 재확인하였다.

3. 정 의

삼출성 흉수의 진단 기준은 다음의 세 가지 경우 중 적어도 한 가지 이상을 만족하는 경우로 정하였다¹⁶. 첫째, 흉수/혈청 protein 비가 0.5를 초과하거나 둘째, 흉수/혈청 lactic acid dehydrogenase (이하 LDH로 약칭함)의 비가 0.6을 초과하거나 셋째, 흉수의 LDH가 혈청 정상 상한치의 2/3을 초과하는 경우이다. 악성 흉수는 다음의 조건 중 하나를 만족하는 경우 판정하였다². 첫째, 흉수 세포검사나 흉막 조직 검사에서 악성 세포가 증명된 경우 둘째, 조직학적으로 원발성 악성 종양이 증명된 상태에서 흉막 삼출액의 원인으로 악성 이외의 다른 원인을 찾을 수 없었던 경우이다. 양성 삼출성 흉수 중 결핵성 흉막염은 다음의 조건 중 하나를 만족하는 경우에 판정하였다². 첫째 흉수의 항산균도말 검사가 양성이거나 흉수 배양 검사에서 *Mycobacterium tuberculosis*가 자란 경우, 둘째 흉막 조직에서 전형적인 건락성 괴사를 가진 육아종성 병변이 관찰된 경우, 셋째 흉막 조직에서 건락성 괴사가 없어도 육아종 소견을 보이면서 흉수 내 adenosine deaminase가 45 IU/L 이상이고 6개월 간의 항결핵제 치료에 호전된 경우를 포함시켰다. 부폐렴 흉수는 급성 열성 질환을 가진 상태에서 악성이나 여출액의 원인이 되는 다른 질환의 동반 없이 화농성 객담과 흉부 단순 촬영에서 폐렴성 침윤이 관찰되는 경우로 하였다. 농흉의 경우 부폐렴 흉수와 같은 임상 양상을 보이지만 흉수 소견이 아래의 경우 중 적어도 한 가지를 만족하는 경우로 하였다¹⁶. 첫째 흉수 소견이 농(pus)이거나, 둘째 pH가 7.2이하, 셋째 흉수 glucose가 60 mg/dL 미만, 넷째 흉수 Gram stain이 양성이거나 세균 배양 양성인 경우 등이다. 원인 미상의 양성

질환은 위에서 언급한 질환의 범주에 정확히 일치하는 소견은 없으나 추적 관찰 결과 흉수가 소실된 뒤 재발하지 않은 경우로 하였다.

4. 통계 분석

먼저 악성과 양성군을 대상으로 환자들의 특성을 분석하였다. 연령, 성별, 흉수 내 백혈구수, 흉수/혈청 protein 비와 흉수/혈청 LDH의 비 등을 대상으로 하였다. 성별을 제외한 대상은 독립표본 T 검정(Independent-Samples T test)을 사용하였고 정규 분포를 보이지 않는 경우 만-위트니 U 검정(Mann-Whitney U test)을 사용하였다. 성별은 카이제곱검정(chi-square test)을 사용하였고 칸(cell)의 기대값이 5 미만이어서 피셔의 정확검정(Fisher's exact test)을 이용하여 비교하였다. 그리고 악성과 양성군간의 흉수 내 MAGE 유전자 발현 및 세포검사의 양성율을 분석할 때 카이제곱검정을 사용하였고 칸의 기대값이 5미만일 경우 피셔의 정확검정을 이용하였다. 그리고 MAGE와 세포검사의 민감도, 특이도, 양성 예측값, 음성 예측값을 각각 산출하였다. 최종적으로 MAGE와 세포검사의 민감도를 맥니머의 검정(McNemar's test)을 이용하여 비교하였다. 위에서 언급한 모든 통계 처리는 SPSS for Windows(release version 11.0)를 이용하였으며 $p < 0.05$ 인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 해석하였다.

결 과

1. 환자들의 특성

대상 환자들은 44명이었으며 평균 연령은 60.3세(범위 16-86세)이었고 성별은 남자 32명, 여자 12명으로 남녀 비율(%)은 72.7 : 27.3이었다. 악성군은 18명, 양성군은 26명으로 악성과 양성 비율(%)

Table 1. Characteristics of patients with malignant and benign pleural effusion

Characteristics	Malignant (n=18)	Benign (n=26)	p Value
Age, year (range)	62.8 (37-83)	58.5 (16-86)	0.450
Sex (Male : Female)	11 : 7	21 : 5	0.183
Pleural fluid WBC* ($\mu\text{l/L}$)	2182 \pm 3880	4000 \pm 5764	0.266
Protein ratio(pleural fluid/serum)	0.673 \pm 0.104	0.715 \pm 0.109	0.217
LDH [†] ratio(pleural fluid/serum)	1.795 \pm 1.669	2.932 \pm 4.767	0.384
Pleural fluid LDH [†] (IU/L)	1308 \pm 1314	1319 \pm 2719	0.987

WBC* : white blood cell, LDH[†] : lactic dehydrogenase

Values of white blood cell, protein ratio, LDH and its ratio are given as the mean \pm standard deviation

Table 2. Expression of MAGE and cytologic examinations in patients with malignant pleural effusion

No	Age	Sex	Cyto -logy	MAGE*	Cause	Cell type
1	75	F	+	+	Lung cancer	Adenocarcinoma
2	51	M	+	+	Lung cancer	Adenocarcinoma
3	37	M	+	+	Lung cancer	Adenocarcinoma
4	63	F	+	+	Lung cancer	Adenocarcinoma
5	83	M	+	-	Lung cancer	Adenocarcinoma
6	75	F	+	-	Lung cancer	Adenocarcinoma
7	68	F	-	+	Lung cancer	Adenocarcinoma
8	53	M	-	+	Lung cancer	Adenocarcinoma
9	71	F	+	+	Lung cancer	Poorly differentiated Carcinoma
10	63	M	+	+	Lung cancer	Anaplastic cell Carcinoma
11	59	M	-	-	Lung cancer	Small cell carcinoma
12	71	M	+	+	Primary unknown	Metastatic Carcinoma
13	63	M	+	+	Primary unknown	Metastatic Carcinoma
14	78	M	+	+	Primary unknown	Metastatic Carcinoma
15	47	F	-	+	Breast cancer	Adenocarcinoma
16	66	M	+	+	Malignant lymphoma	Diffuse large B cell lymphoma
17	67	F	-	-	Malignant lymphoma	Diffuse large B cell lymphoma
18	40	M	-	-	Malignant lymphoma	Follicular lymphoma

MAGE* : melanoma antigen gene

은 40.9 : 59.1이었다. 악성군의 경우 모두 18명으로 평균 연령은 62.8세(범위 37-83세)이었고 성별은 남자 11명, 여자 7명이었다. 양성군의 경우 26명으로 평균 연령은 58.5세(범위 16-86세), 성별은 남자 21명, 여자 5명이었다(Table 1). 악성과 양성군에 따른 연령과 성별의 차이는 통계적으로 유의

한 차이가 없는 것으로 나타났다($p>0.05$). 흉수 내 백혈구 수, 흉수 내 LDH, 흉수/혈청 protein 비 및 흉수/혈청 LDH 비 등도 양 군간에 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다($p>0.05$). 악성군에서 진단된 암의 종류는 폐암 11례, 악성 림프종 3례, 유방암 1례, 원발 부위 미상 3례 등이었고(Table 2) 양성

Table 3. Sensitivity and specificity of MAGE and cytologic examinations in patients with pleural effusion

	Cytology(+)	Cytology(-)	MAGE*(+)	MAGE(-)	Total
Malignant	12	6	13	5	18
Benign	0	26	1	25	26
Total	12	32	14	30	44
Sensitivity	12/18 × 100 = 66.7%		13/18 × 100 = 72.2%		(p=1.00)
Specificity	26/26 × 100 = 100%		25/26 × 100 = 96.2%		
PPV [†]	12/12 × 100 = 100%		13/14 × 100 = 92.9%		
NPV [‡]	26/32 × 100 = 81.3%		25/30 × 100 = 83.3%		

MAGE* : melanoma antigen gene

PPV[†] : positive predictive value

NPV[‡] : negative predictive value

Table 4. Comparisons of MAGE and cytologic examinations in patient with pleural effusion

	Cytology(+)	Cytology(-)	Total
MAGE*(+)	10	4	14
MAGE(-)	2	28	30
Total	12	32	44

MAGE* : melanoma antigen gene

군의 경우 결핵성 흉막염 16례, 농흉 4례, 부폐렴 흉수 3례, 원인 미상 3례 등이었다.

2. MAGE 유전자 발현의 검출

MAGE는 악성군이 양성군에 비해 유의하게 높은 빈도로 검출이 되었다. (P value=0.000) MAGE 유전자 검출의 민감도는 72.2%, 특이도는 96.2%가 나왔으며 양성 예측값과 음성 예측값은 각각 92.9%, 83.3%이었다. 양성 질환인 결핵성 흉막염 1례에서 MAGE 유전자가 검출되었다(Table 3). 그리고 세포검사의 민감도는 66.7%, 특이도는 100%이었으며 양성 예측값과 음성 예측값은 각각 100%, 81.3%이었다(Table 3).

3. MAGE와 세포검사의 비교

MAGE와 세포검사 간에 민감도를 비교한 결과 유

의한 차이는 없는 것으로 나타났다(P value=1.00). 세포검사가 음성이었으나 MAGE가 양성으로 나온 경우 4례 있었다. 2례가 폐암, 1례가 유방암이었으며 암의 조직형은 모두 선암(adenocarcinoma)이었으며 나머지 1례는 결핵성 흉막염이었다. 그리고 세포검사가 양성이었으나 MAGE가 음성으로 나온 경우가 2례이었는데, 모두 폐암으로 조직형은 선암이었다(Table 2, Table 4).

고 찰

악성 흉수를 일으키는 원발 종양은 폐암이 가장 흔하며 유방암, 악성 림프종 등이 있으며 난소나 위장관에서 발생하는 암도 원인이 될 수 있다¹⁷. 이러한 악성 흉수를 대상으로 다양한 생화학 검사를 시행하지만 확진을 위해서는 세포검사나 흉막 조직 검사와 같은 악성 세포를 증명하는 검사가 필요하다. 그 중 세포검사는 비교적 손쉽게 시행할

수 있으나 연구자들에 따라 진단율이 40-90%로 큰 차이를 보이는 것으로 알려져 있다^{1,17}. 이는 종양의 진행 정도, 원발 종양의 성상에 따라 달라질 수 있으며¹⁷ 특히 판독하는 병리 의사의 숙련도에 따라서도 편차를 보일 수 있다¹. 이번 연구에서는 흉수 내 세포검사의 민감도는 66.7%가 나와 기존의 연구 결과와 차이는 없었다.

현재까지 종양 표지자를 이용하여 악성 흉수를 감별하려는 노력이 시도되었으나 만족스러운 결과를 얻지 못하였다. 가장 널리 알려져 있는 CEA의 경우 10 ng/mL 내외의 진단양성 기준치(cutoff value)를 적용하여 90% 이상의 특이도를 가질 때 민감도는 대체로 30-50%로 세포검사에 비해 높지 않은 것으로 알려져 있다^{1,18}. 그래서 Light 등¹은 CEA는 흉수의 기본 검사로 시행할 필요가 없다고 주장하였다. 이에 비해 이번 연구에서 사용된 MAGE 검사 kit는 RT-PCR 방법을 이용하므로 이론적으로 하나의 암세포가 존재하더라도 그 세포 내의 RNA를 추출할 수 있으면 양성이 나오므로 민감도가 매우 높을 것으로 예측되며, MAGE가 암세포에 특이적으로 반응하므로^{7,8} 특이도 또한 높을 것으로 예측된다. 따라서 CEA와 같은 종양 표지자에 비해 더 높은 진단적 가치를 가지고 있을 것으로 판단된다. 실제로 이번 연구 결과 MAGE는 민감도(72.2%) 및 특이도(96.2%) 모두 기존에 알려진 CEA 결과에 비해 적어도 비슷하거나 더 나은 결과를 보여주었다.

MAGE는 악성 흑색종에서 발현되어 세포독성 T 림프구에 특이적으로 반응하는 항원으로 최근 종양의 진단과 면역 치료에 응용되어 많은 연구가 이루어졌다^{6,8,19}. 두경부암, 식도암, 위암, 대장암, 유방암, 폐암, 간암, 난소암 및 림프구성 백혈병 등 대부분의 암종에서 MAGE가 발현됨이 밝혀졌다⁷⁻¹². 따라서 현재 MAGE는 대부분의 암에서 발현되는 것으로 알려져 있으며 암세포에 매우 특이적으로 반응하므로 암의 진단에 중요한 지표로서 연구되고 있

다. 최근 폐암 환자에서 유도 객담을 이용하여 MAGE를 암의 조기 진단에 이용하려는 연구가 시도되었는데, 약 80%의 진단 양성율을 보여주었다¹⁵. 이번 연구의 대상인 흉수의 경우 MAGE의 민감도는 72.2%를 보여 유도 객담과 유사한 결과를 보여 주었으며 동시에 측정된 세포검사의 민감도(66.7%)와도 차이가 없어 향후 세포검사를 대체할 가능성도 있음을 보여주었다.

MAGE 유전자는 1991년 van der Bruggen 등²⁰에 의해 처음 보고 된 이후 현재까지 사람에서 25개의 유전자가 발견되었고 X 염색체 상에 존재한다. MAGE 유전자군은 I형과 II형으로 나뉘는데, I형에는 MAGE-A, -B, -C 유전자들이 존재한다²¹. 이중 MAGE-A군은 MAGE-1에서 MAGE-12를 포함하는 아형들로 구성되어 있으며 MAGE A 내의 개별 유전자의 발현을 암의 진단에 이용하려는 연구가 시행되었다⁸. 기존의 RT-PCR 방법을 통한 MAGE 검사 방법은 적은 수의 암세포에서도 높은 민감도를 보여 줄 수 있지만, 단일 MAGE 유전자 아형만을 검사하게 되므로 다양한 암 조직에 비해 상대적으로 낮은 개별 MAGE 유전자 아형의 발현 빈도로 인하여 제한점을 가지고 있었다. 그래서 여러 연구자들은 이론적으로 MAGE 유전자들을 동시에 검사하여 그 중 적어도 하나 이상의 발현을 알아내면 매우 높은 빈도로 암세포를 발견할 수 있을 것이라고 하였다^{10,11}. 그래서 단일 MAGE 유전자 아형의 발현만을 확인하는 것보다 다수의 아형들을 동시에 측정할 수 있다면 이론적으로 암세포를 검출할 가능성이 더 높아질 것으로 유추할 수 있다²². 이에 Park 등⁶은 MAGE-1, -2, -3, -4a, -4b, -5a, -5b, -6 아형들을 동시에 측정할 수 있는 common primer를 설계한 뒤 이를 이용하여 암의 진단율을 높일 수 있었다는 연구 결과를 발표하였다. 이번 연구에서도 Park 등⁶의 설계를 토대로 개발한 commercial kit를 사용하여 단일 MAGE 유전자 아형만을 검사한 경우보다 악성 흉

수의 진단율을 더 높일 수 있었다고 판단된다. 특히 악성 흉수에서 세포검사가 음성이었으나 MAGE가 양성인 나온 3례의 경우가 있었는데, 향후 더 많은 MAGE 아형을 검출할 수 있는 primer를 개발할 수 있다면 세포검사보다 더 높은 민감도를 보여줄 가능성이 있을 것으로 생각된다.

이번 연구에서 악성 흉수를 보이는 경우 원발종양은 대부분 폐암이었고 조직형은 선암이었는데 선암의 경우 80%에서 MAGE 양성을 나타내었다. 이론적으로는 세포검사에서 악성 세포가 증명된 경우 모두 MAGE 양성으로 나와야 하지만 일부에서 음성이었다. 이는 이번 연구에 사용된 키트가 검출할 수 있는 MAGE 항원의 종류가 MAGE-1, -2, -3, -4a, -4b, -5a, -5b, -6에 국한되어 있으므로 이들 종양에서 발현된 MAGE 항원 아형이 이와 다른 종류이어서 음성으로 나왔을 것으로 추측된다. 폐암의 경우 선암 이외에 소세포 폐암이 1례가 있었는데 세포검사, MAGE 모두 음성이었다. Traversari 등²³의 연구에 따르면 대부분의 소세포 폐암에서 MAGE-1, -3이 발현되었다. 그리고 악성 림프종도 3례가 있었는데, 이중 1례만이 세포검사와 MAGE 모두 양성인 나왔으며 2례는 세포검사와 MAGE 모두 음성이었다. Chambost 등²⁴은 18명의 Hodgkin's disease를 가진 환자의 28%에서 MAGE-A4가 발현되었고 9명의 Non-Hodgkin's disease 환자들 중 2명에서 MAGE가 발현되었다고 보고하였다.

이번 연구에서 결핵성 흉막염 1례에서 MAGE가 양성이었었는데, 이론적으로 MAGE 유전자는 건강한 성인에서는 고환과 태반을 제외하고 발현되지 않는 것으로 알려져 있다⁷. 특히 고환은 MAGE-7 유전자를 제외한 모든 MAGE 유전자들이 발현되며 정자 발생 과정의 초기에 정모 세포에서 MAGE가 발현되며 후기에는 MAGE가 발현되지 않는 것으로 알려져 있다⁵. 그러나 일부 연구에 의하면 MAGE 유전자가 종양의 발생과 관련된 이중

(foreign) 항원이 아니라 발생 과정에서 구획화(compartmentalization)되어 생긴 정상 분화 항원이라는 주장이 제기되었다⁵. Becker 등²⁵은 MAGE-1 유전자가 상처 치유 과정 중의 정상 피부 조직에서 발현되었으며 이는 염증이나 조직의 치유 과정 중에서도 MAGE 유전자가 활성화될 수 있음을 의미한다고 주장하였다. 따라서 결핵성 흉막염 1례에서 MAGE가 양성으로 나온 기전은 단순한 오염일 가능성이 많지만, 아직 밝혀지지 않은 결핵성 흉막염의 발생 과정 중 생긴 염증으로 인하여 MAGE 유전자가 이차적으로 발현되어 나온 결과일 가능성도 배제할 수 없다. 향후 더 많은 수의 검사를 통한 추가 연구가 필요할 것으로 판단된다.

요 약

연구배경 :

최근 암에서 발현되는 다양한 종양특이항원들이 밝혀지고 있다. MAGE는 대부분의 암에서 발현되므로 이러한 종양 특이성을 이용하여 암을 진단하려는 연구가 시도되고 있다. 그러나 흉수를 대상으로 MAGE 발현을 검사한 연구는 아직 없었다. 이번 연구는 삼출성 흉수에서 MAGE 유전자의 발현 여부를 검사하여 양성인 악성의 감별진단에 도움이 되는지를 알아보고 이를 기존의 세포검사 결과와 비교해 보기 위하여 시행하였다.

방 법 :

2002년 1월 1일부터 동년 6월 30일까지 삼출성 흉수임이 확인된 44명을 대상으로 하였다. 10 mL의 흉수를 채취하여 각각 5 mL씩 세포검사와 MAGE 검사를 시행하였다. MAGE 발현 유무는 RT-PCR 방법을 이용한 commercial kit를 이용하여 판정하였다. 등록된 환자들은 악성인 양성군으로 분류하여 각각 민감도와 특이도를 비교 분석하였다.

결 과 :

연령, 성별, 흉수 내 백혈구 수치, 흉수/혈청 protein

비 및 흉수/혈청 LDH 비 등은 악성과 양성군 간에 유의한 차이가 없었다. MAGE 검사의 민감도는 72.2%, 특이도 96.2%, 양성 예측값 92.9% 그리고 음성 예측값은 83.3%이었으며 세포검사의 민감도는 66.7%, 음성 예측값 81.3%이었다. MAGE 검사와 세포검사의 민감도는 통계적으로 유의한 차이는 없었으며 특이도의 경우 결핵성 흉막염 1례에서 MAGE가 위양성이 나왔다.

결 론 :

MAGE 검사는 삼출성 흉수를 가진 환자에서 양성군과 악성의 감별진단에 예민하고 특이적인 지표로 평가된다. 또한 악성 흉수를 가진 환자에서 5mL의 흉수를 검사할 경우 MAGE 검사는 세포검사와 동등한 수준의 민감도를 가지는 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. Light RW. Pleural diseases. 4th ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins ; 2001.
2. Marel M, Stastny B, Melinova L, Svandova E, Light RW. Diagnosis of pleural effusions Experience with clinical studies 1986 to 1990. Chest 1995;107:1598-603.
3. 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. Chest 1995;108:163-9.
4. Salama G, Miedouge M, Rouzaud P, Mauduyt MA, Pujazon MC, Vincent C, et al. Evaluation of pleural CYFRA 21-1 and carcinoembryonic antigen in the diagnosis of malignant pleural effusions. Br J Cancer 1998;77:472-6.
5. Itoh K, Hayashi A, Nakao M, Hoshino T, Seki N, Shichijo SJ. Human tumor rejection antigens MAGE. Biochem 1996;119:385-90.
6. Park JW, Kwon TK, Kim IH, Sohn SS, Kim YS, Kim CI, et al. A new strategy for the diagnosis of MAGE-expressing cancers. Immunol Methods 2002;266:79-86.
7. Jungbluth AA, Busam KJ, Kolb D, Iversen K, Coplan K, Chen YT, et al. Expression of MAGE-antigens in normal tissues and cancer. Int J Cancer 2000;85:460-5.
8. Van den Eynde BJ, van der Bruggen P. T cell defined tumor antigens. Curr Opin Immunol 1997;9:684-93.
9. Zamboni A, Mandruzzato S, Parenti A, Macino B, Dalerba P, Ruol A, et al. MAGE, BAGE, and GAGE gene expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the gastric cardia. Cancer 2001;91:1882-8.
10. Yoshimatsu T, Yoshino I, Ohgami A, Takenoyama M, Hanagiri T, Nomoto K, et al. Expression of the melanoma antigen-encoding gene in human lung cancer. J Surg Oncol 1998;67:126-9.
11. Otte M, Zafrakas M, Riethdorf L, Pichlmeier U, Loning T, Janicke F, et al. MAGE-A gene expression pattern in primary breast cancer. Cancer Res 2001;61:6682-7.
12. Tahara K, Mori M, Sadanaga N, Sakamoto Y, Kitano S, Makuuchi M. Expression of the MAGE gene family in human hepatocellular carcinoma. Cancer 1999;85:1234-40.
13. 정만홍, 김지호, 김지혜, 박기룡, 옥철호, 조현명 등. 폐암환자의 경기관지 생검조직에서 MAGE 및 GAGE 발현. 대한내과학회지 2002;62:58-68.
14. 강태경, 서남원, 김도형, 안은모, 여태홍, 김준홍 등. 자궁경부암에서 MAGE 3 유전자 산물의 발현. 대한산부인과학회잡지 2001;44:519-24.

15. 육동승, 신호식, 최바울, 김지혜, 신성훈, 옥철호 등. 폐암환자의 유도 객담에서 MAGE의 발현. 결핵 및 호흡기질환 2002;53:265-74.
16. Light RW. Chapter 262. Disorders of the pleura, mediastinum, and diaphragm. In : Braunwald E, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson JL, editors. Harrison's principles of internal medicine. 15th ed. New York: McGraw-Hill, Inc.;2001. p.1513-1515.
17. American Thoracic Society. Management of malignant pleural effusions. Am J Respir Crit Care Med 2000;162:1987-2001.
18. Garcia-Pachon E, Padilla-Navas I, Dosda MD, Miralles-Llopis A. Elevated level of carcinoembryonic antigen in nonmalignant pleural effusions. Chest 1997;111:643-7.
19. Marchand M, van Baren N, Weynants P, Brichard V, Dreno B, Tessier MH, et al. Tumor regressions observed in patients with metastatic melanoma treated with an antigenic peptide encoded by gene MAGE-3 and presented by HLA-A1. Int J Cancer 1999; 80:219-30.
20. van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde B, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. Science 1991;254:1643-7.
21. Barker PA, Salehi A. The MAGE proteins: emerging roles in cell cycle progression, apoptosis, and neurogenetic disease. J Neurosci Res 2002; 67:705-12.
22. 이강대, 이정삼, 이환호, 이영선, 장희경, 전창호 등. 두경부암에서 MAGE 1-6 mRNA를 검출하는 새로운 MAGE common primer의 의의. 대한이비인후과학회지 2001;44:736-43.
23. Traversari C, Meazza R, Coppolecchia M, Basso S, Verrecchia A, van der Bruggen P, et al. IFN-gamma gene transfer restores HLA-class I expression and MAGE-3 antigen presentation to CTL in HLA-deficient small cell lung cancer. Gene Ther 1997;4: 1029-35.
24. Chambost H, Van Baren N, Brasseur F, Godelaine D, Xerri L, Landi SJ, et al. Expression of gene MAGE-A4 in Reed-Sternberg cells. Blood 2000; 95:3530-3.
25. Becker JC, Gillitzer R, Brocker EB. A member of the melanoma antigen-encoding gene (MAGE) family is expressed in human skin during wound healing. Int J Cancer 1994;58:346-8.