

말초 비소세포폐암 환자에서 기관지 세척액 *MAGE* 유전자 진단의 유용성

성균관대학교 의과대학 내과학교실, 삼성서울병원 호흡기내과

김수현, 김호중, 권오정, 정만표, 서지영, 고원중, 함초롬, 남해성, 엄상원, 권용수, 박성훈

The Utility of *MAGE* Gene Detection in Bronchial Washing Fluid for Patients with Peripheral NSCLC

Suhyun Kim, M.D., Hojoong Kim, M.D., O Jung Kwon, M.D., Man Pyo Chung, M.D., Gee Young Suh, M.D., Won-Jung Koh, M.D., Cho Rom Ham, M.D., Hae Seong Nam, M.D., Sang-Won Um, M.D., Yong Soo Kwon, M.D., Sunghoon Park, M.D.

Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Department of Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea

Background: The melanoma antigen-encoding (*MAGE*) genes are known to be expressed in various cancer cells, including non-small cell lung cancer (NSCLC), and are silent in all normal tissues except for the testis. In patients with peripheral NSCLC, bronchial washing fluid can be used to detect the *MAGE* genes, suggesting a diagnosis of lung cancer. In order to evaluate the diagnostic utility of the *MAGE* test in patients with peripheral NSCLC, bronchial washing fluid was investigated in patients with peripheral pulmonary nodules, which were invisible as detected by bronchoscopy.

Methods: Bronchial washing fluid from 37 patients was used for cytological examinations and *MAGE* gene detection, using RT-nested-PCR of common A1-A6 mRNA. Results were compared to a final diagnosis of patients as confirmed by pathology.

Results: Among the 37 subjects, NSCLC was diagnosed in 21 patients, and benign pulmonary diseases were diagnosed in 16 patients. *MAGE* mRNA was detected in 10 of 21 (47.6%) NSCLC patients, while conventional cytology examinations were positive for *MAGE* expression in 2 of 21 (9.5%) cases. *MAGE* expression was observed in 4 of 16 (25%) benign pulmonary disease patients.

Conclusion: The *MAGE* test of bronchial washing fluid can be used as a sensitive predictor of peripheral NSCLC patients. (*Tuberc Respir Dis* 2008;64:15-21)

Key Words: Melanoma antigen gene (*MAGE*), Lung neoplasm, Coin lesion

서론

한국중앙암등록사업 연례보고서에 따르면 2002년 새로 이 등록된 암 중 폐암의 등록분율은 11.9%로 2위였으나¹, 같은 해 통계청이 발표한 사망원인통계연보 중 폐암으로 인한 사망분율은 20.0%로 1위였다². 비소세포폐암은 원발성 폐암의 75~85%를 차지하는 흔한 악성 종양으로, 많

은 선진국에서 암 사망 원인 중에 가장 중요한 원인으로 부각되고 있다³. 수술이 비소세포폐암의 완치를 위한 가장 효과적인 치료법이지만, 수술 이후에도 5년 생존율이 20~35%에 불과하고⁴, 진단될 때 65% 이상에서 이미 절제 수술이 불가능한 상태로 발견되어⁵ 항암 치료 및 방사선 치료의 발전에도 불구하고 예후가 매우 나쁜 실정이다⁶. 따라서 비소세포폐암의 발생기전에 대한 연구는 진단 및 치료에 있어서 매우 중요하다.

암세포는 다양한 유전자 변화와 세포기능 이상을 나타내면서 진행성 암으로 발전하게 된다. 그 과정에서 종양 유전자의 과발현, 종양 억제 유전자의 기능 소실, 그리고 발암 물질에 의해 손상된 DNA의 복구 장애로 변형된 유전자를 가진 암세포들이 증식하게 된다⁷. 1991년 Thierry Boon 등이 악성 흑색종(melanoma)에서 *MAGE-1*이라는 항원을 발견한 이래 종양에 특이적으로 반응하는 T-cell

Address for correspondence: Hojoong Kim, M.D.

Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Department of Medicine, Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, 50, Ilwon-dong, Gangnam-gu, Seoul 135-710, Korea

Phone: 82-2-3410-3425, Fax: 82-2-3410-3849

E-mail: hjk3425@skku.edu

Received: Dec. 11, 2007

Accepted: Jan. 11, 2008

line을 이용하여 몇몇 인체 종양 항원이 주로 악성 흑색종에서 발견되었다⁸. 흑색종항원유전자(Melanoma Antigen Gene, *MAGE*)는 악성 흑색종에서 처음 발견된 종양 항원과 그 유전자를 총칭하는 용어로서, 이 종양 항원은 악성 흑색종 뿐만 아니라 폐암, 두부 경부암, 유방암, 식도암, 위암, 간암, 대장암, 자궁 경부암, 난소암 등 대다수 암에서 표현되며, 정상 조직에서는 남성의 생식기 세포 및 태반에서만 발현되는 매우 특이적인 유전자이다^{9,10}.

흑색종항원유전자는 A형부터 L형까지 12 종류가 있으며¹¹, 몇몇 아형을 제외한 대부분의 아형이 폐암에서 발견되고 있으나 A형(*MAGE-A*)이 종양 특이성이 높아 면역치료를 위한 연구에 주로 이용되고 있다¹². 활성화된 흑색종항원유전자는 폐암 발생에 있어 중요한 역할을 하므로, 진단 및 예후 인자로 사용할 수 있을 것으로 생각되고 있다¹³. 본 연구에서는 기관지내시경으로 조직 검사가 어려운 고립성 폐결절 환자의 기관지 세척액을 이용한 *MAGE* 양성 여부를 검사하고 기존의 진단 방법과 비교하여 폐암의 진단에 어느 정도 도움이 되는지 알아보고자 한다. 기존에는 흑색종항원유전자-A의 각 아형에 대한 시발체만을 이용하여 발현율이 낮았으나¹⁴⁻¹⁷, 본 연구에서 사용한 *MAGE* A1-A6 RT-nested PCR은 *MAGE* 아형 A1~A6까지의 8종(*MAGE* A-1, -2, -3, -4a, -4b, -5a, -5b, -6)에 대한 공통 시발체(common primer)를 이용하여 민감도를 높였다^{18,19}.

대상 및 방법

1. 대상 환자

본 연구는 삼성서울병원 기관지내시경위원회(Institutional Review Board, IRB)의 승인을 받아 전향적으로 시행하였다. 2007년 1월과 2월에 삼성서울병원 호흡기내과에서 기관지내시경을 시행한 환자 중에서, 기관지 내시경을 이용하여 조직검사가 불가능한 폐결절 환자 중, 피험자 동의서에 서명하여 시험 참여에 동의한 환자 37명을 대상으로 하였다. 경피적 세침흡인술(Percutaneous Needle Aspiration, PCNA)이 불가능한 환자와 타장기의 암이 확인된 환자, anti-HIV 양성 또는 AIDS 환자, 간기능 및 신기능 장애 환자(Total bilirubin > 2.5 mg/dl, AST or ALT > 3 times the upper limits of normal, alkaline phosphatase > 5 times the upper limits of normal, serum creatinine > 1.8 mg/dl), 조절되지 않는 출혈성 질환 환자 등은 대상에서 제외하였다. 대상 환자는 흉부 전산화 단층 촬영 및

경피적 세침흡인술 등 기본적인 고립성 폐결절에 대한 진단 검사를 받도록 하였고, 환자의 최종 진단은 병리학적 및 미생물학적으로 내렸다.

2. 연구 방법

1) **기관지 세척액의 채취 및 보관**: 환자는 기관지내시경 시행 전날 자정 이후부터 금식을 하게 하였고, 검사 직전 Midazolam 0.04 mg/kg을 정주하여 수면 상태에서 기관지내시경을 시행하였다. 폐결절이 있는 부위의 구역 기관지에서 기관지 세척을 3회 시행하여 항산균 도말/배양, 결핵 중합효소연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR) 및 세포진검사를 의뢰하였고, 세포진검사 검체 중 2 ml를 검체 용해 용액(specimen digester solution) 15 ml와 혼합하여 바로 -20°C 에 냉동시켜 보관하였다.

2) **공통 흑색종항원유전자 시발체(common *MAGE* primer)**: 최근 국내에서 개발된 Cancer Hunter Kit (*MAGE* A1-A6 RT-nested PCR)는 *MAGE* 아형 A1~A6까지의 8종(*MAGE* A1, -2, -3, -4a, -4b, -5a, -5b, -6)에 대한 공통 시발체를 이용하여 단일 시험관에서 두 번의 연속적인 PCR(single tube nested RT-PCR)을 시행하는 시약으로 *MAGE* 각 아형에 대한 검사를 별도로 수행하기 힘든 점을 보완하였다. 사용한 시발체는 CTGAAGGAGAAGATCTGC와 TCC-AGGTAGTTTTCTGCAC, 그리고 CTGAAGGAGAAGATCTGCC(A/T)GTG와 CCAGCATTTCTGCCTTTGTGA이었다.

3) **RNA 추출**: 자석화 된 bead를 이용하여 검체의 RNA를 추출하였다. 약술하면, 검체를 해동시킨 후 2,000 rpm에서 5분간 원심 분리하였고, 상층액에 cap bead 20 μl 를 첨가한 후 실온에서 흔들면서 30분간 반응시켰다. 자석을 이용하여 bead를 침전시킨 후, 상층액을 제거하였고, wash buffer 1 ml를 이용하여 bead를 3회 세척하였다. 이 후 DEPC-DW를 30 μl 넣어 부유시키고, 75°C 에 5분간 두어 RNA를 bead에서 분리한 후, 원심 분리하였다. 이를 얼음에 둔 RNA 용액에 용해하여, 이 중 11.5 μl 를 역전사 중합효소연쇄반응(nested reverse transcription polymerase chain reaction, nested RT-PCR)에 사용하였다.

4) **역전사중합효소연쇄반응**: PCR tube에 RT master mix 7 μl , RNase inhibitor 0.5 μl , RT enzyme 1 μl 를 혼합한 후 얼음에 두고 RT 혼합물에 RNA 용액 11.5 μl 를 첨가하였다. Mineral oil을 한 방울 첨가하여 25°C 에서 10분간, 42°C 60분간 RT 반응 후 GC-DW용액을 100 μl 첨가하여 혼합 후 11.8 μl 를 PCR에 사용하였다. 1차, 2차 역전사중

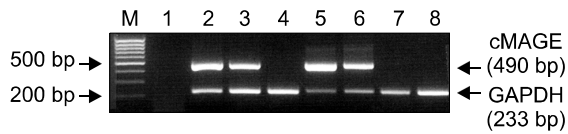


Figure 1. Amplification of MAGE 1-6 by nested RT-PCR using common MAGE primers. Lane 1: Negative control, Lane 2: Tumor tissue, Lane 3: Prostate cancer cell line, Lane 4: Somatic cancer cell line, Lane 5: MAGE positive control, Lane 6: Sample 1, Lane 7: Sample 2, Lane 8: Normal tissue. GAPDH: glyceraldehydes phosphate dehydrogenase.

Table 1. Characteristics of patients

	NSCLC*	Benign lung disease
Number of patients (%)	21 (56.8)	16 (43.2)
Sex		
Male	13	10
Female	8	6
Age, yr		
Median	62.7	47.2
Range	44~79	20~73

*Non-small cell lung cancer.

합효소연쇄반응을 거친 후 전기 영동하였다(Figure 1).

3. 통계분석

흑색종항원유전자의 발현 정도는 Pearson 카이 제곱법, Fisher's exact test를 이용하여 비교하였으며, 유의수준이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 환자들의 특성

대상 환자들은 37명이었으며 연령의 중앙값은 59세(범위 20~79세)이었고, 남녀의 비율은 23 : 14이었다(Table 1). 악성군은 21명, 양성군은 16명이었으며, 악성군 21명은 모두 비소세포폐암 환자로 선암이 13예(61.9%), 편평상피세포암이 8예(38.1%)이었다. 양성군의 경우 폐결핵이 5예, 진균증 3예, 기질화 폐렴과 양성 육아종 각각 2예, 비결핵 항산균 질환과 유육종증, 동정맥 기형 그리고 기관지 낭종이 각각 1예로 진단되었다.

각 그룹별 진단 방법은, 악성군의 경우 경피적 세침흡

Table 2. Expression rate of MAGE 1-6 RT-nested PCR in bronchial washing fluid according to histological types

	Number of patient	Number of MAGE expression	Expression rate of MAGE
NSCLC*	21	10	47.6%
Adenocarcinoma	13	4	30.8%
Squamous cell carcinoma	8	6	75.0%
Benign lung disease	16	4	25.0%
Total	37	16	

*Non-small cell lung cancer.

인술(16예)이나 수술적 폐생검(5예), 혹은 수술적 절제술(17예)의 검체를 병리학적으로 확진하였다. 양성 폐질환의 경우, 경피적 세침흡인술(9예)이나 수술적 폐생검(3예), 혹은 경기관지 폐생검(1예)으로 병리학적으로 진단하였고, 결핵 2예와 비결핵 항산균 폐질환 1예에서는 객담 및 기관지 세척액으로 미생물학적으로 진단하였다.

2. 비소세포폐암 군에서의 MAGE 유전자 발현과 세포진검사

비소세포폐암 환자 21명 중 10명에서 MAGE 유전자가 검출되어 MAGE 검사의 민감도는 47.6%로 나타났다. 기관지세척액 세포진검사는 비소세포폐암 환자의 9.5% (2/21)에서만 양성으로 나타났으며, 세포진검사에서 위음성을 보였던 비소세포폐암 환자 19명 중 8명에서 MAGE 검사에는 양성으로 나타났다.

비소세포폐암의 조직형에 따른 민감도는 선암종(30.8%)보다 편평상피세포암(75.0%)에서 더 높았으나, 통계적으로 유의하지는 않았다($p=0.080$, Table 2). 임상병기에 따른 MAGE 검사의 발현 정도는 1병기에서 33.3% (4/12), 2병기에서 100% (2/2), 3병기는 60.0% (3/5), 4병기는 50.0% (1/2)로, 병기에 따른 차이가 없었다(Table 3). T1 병기 환자에서의 MAGE 발현율은 44.4% (4/9), T2는 33.3% (3/9), T3와 T4는 100% (T3 2/2, T4 1/1)로 T 병기에 따른 발현율의 차이도 없었다.

3. 양성 폐질환군에서의 MAGE 유전자 발현과 세포진검사

양성 폐질환의 경우 세포학적 검사상으로는 모두 음성으로 특이도가 100%이었으나, 결핵과 진균증, 기질화 폐렴, 동정맥 기형 각각 1예에서 MAGE에 위양성을 보여서

Table 3. Expression rates of MAGE A1-A6 RT-nested PCR and cytology according to the pathologic stages in NSCLC patients

	Number of patients	MAGE expression (%)	Cytologic diagnosis (%)
Stage I	12	4 (33.3)	1 (9.3)
Stage II	2	2 (100)	0 (0)
Stage III	5	3 (60.0)	0 (0)
Stage IV	2	1 (50.0)	1 (50.0)
Total	21	10	2

Table 4. Expression rate of MAGE A1-A6 RT-nested PCR in bronchial washing fluid with benign lung disease

	Number of patient (%)	Number of patient showing MAGE (+)
Tuberculosis	5	1
Aspergilloma	3	1
Organizing pneumonia	2	1
Benign granuloma	2	0
AVM*	1	1
Sarcoidosis	1	0
Bronchogenic cyst	1	0
NTM lung disease [†]	1	0
Total	16	4

*pulmonary arteriovenous malformation, [†]non-tuberculous mycobacterium.

MAGE 검사의 특이도는 75.0%로 나타났다(Table 4).

4. MAGE 유전자 발현과 세포진검사의 비교

MAGE 검사의 양성 예측값과 음성 예측값은 각각 71.4%, 52.2%이었으며, 세포진검사의 양성 예측값과 음성 예측값은 각각 100%, 45.7%이었다(Table 5).

고 찰

말초형 비소세포폐암의 진단을 위한 방법으로 경피적 세침흡인술이 가장 많이 사용되며 10 mm 이상의 악성 결절의 경우 민감도가 95% 이상으로 높지만²⁰⁻²², 경피적 세침흡인술은 기흉(0~61%, 평균 20%)과 출혈(0~10%) 등의 합병증이 있으며²⁰, 영상의학과 의사의 도움이 필수

Table 5. Sensitivity and specificity of MAGE and cytological examinations

	MAGE		Cytology	
	Positive	Negative	Positive	Negative
NSCLC*	10	11	2	19
Benign	4	12	0	16
Sensitivity	47.6%		9.5%	
Specificity	75.0%		100%	
PPV [†]	71.4%		100%	
NPV [‡]	52.2%		45.7%	

*non-small cell lung cancer, [†]positive predictive value, [‡]NPV: negative predictive value.

적이다. 반면 중심형 폐암의 조직검사에 주로 이용되는 기관지내시경은 다양한 폐질환의 진단 및 치료를 위해 쉽고 안전하게 사용되며, 특히 폐암의 세포학적, 조직학적 진단 및 병기 결정에 있어 중요한 역할을 한다²³.

기관지내시경으로 보이지 않는 말초형 폐암의 진단에 도움을 주는 경기관지 폐생검, 브러시 및 기관지세척 등의 방법 중 기관지 세척액 검사가 합병증이 적고 손쉽게 시행할 수 있어 가장 많이 사용되고 있다^{24,25}. 기관지 세척액을 이용한 세포진검사는 원발암의 크기 및 위치, CT 스캔상 종괴 내에 기관지가 포함되어 있는 지 등의 여부가 영향을 미치는 것은 하지만^{23,26,27}, 진단율은 43% 정도로 다소 낮게 보고되고 있다²⁷⁻³⁰. 따라서 미국 흉부 내과학회(ACCP) 진료지침에서는 말초형 폐암의 진단을 위해서는 세포진검사에 다른 침습적인 검사를 보완하도록 하고 있다³⁰.

흑색종항원유전자(MAGE)는 비소세포폐암을 비롯한 위암, 식도암, 대장암, 유방암, 간세포암, 난소암 등 다양한 종양에서 발현되며, DNA의 CpG promoter의 탈메틸화(demethylation)에 의하여 유도되는 것으로 알려져 있다³¹. 그러나 태반과 고환을 제외한 정상세포에서는 CpG promoter가 계속 메틸화(methylation) 되어 있어 유전자는 활성화되지 않는 상태로 존재한다¹⁸. 폐암에 대한 MAGE의 연구는 비교적 검출률이 높다고 알려진 A3와 A4에 대하여 이루어지나, 기존의 연구는 역전사중합효소연쇄반응법에 사용하는 시발체를 MAGE-A의 아형 중, 한 가지만을 이용하기 때문에 양성률이 21~45% 정도로 낮은 단점이 있었다^{14-17,32}. 그러나 최근 MAGE-1, -2, -3, -4a, -4b, -5a, -5b, -6 아형들을 동시에 측정할 수 있는 공통 흑색종 항원 유전자 시발체를 이용한 nested RT-PCR 법을 이용한 연구에서는 검체에 따른 차이는 있지만 MAGE 검

출률이 48~83%로 향상되어 폐암의 진단에 도움을 줄 수 있을 것을 시사하였다^{18,19,33}.

본 연구에서도 Park 등³³의 설계를 토대로 개발한 commercial kit를 사용하여 비소세포폐암의 기관지 세척액 내 MAGE 발현율을 조사하였고, 말초형 비소세포폐암의 MAGE 발현율은 47.6%로 나타났다. 기존의 연구들과 달리 기관지 내시경으로 보이지 않았던 말초형 폐암만을 대상으로 하여 발현율이 다소 낮았으나, 세포진 검사상으로는 9.5%에서만 양성을 보여 세포진 검사보다 훨씬 더 높은 민감도를 보였다. 특히 세포진 검사상 위음성으로 나타났던 19명의 환자 중 8명에서 MAGE 검사로는 양성으로 발현되었다.

통계학적으로 유의하지는 않았지만 선암종(30.8%)보다 편평상피세포암(70.5%)에서 MAGE 양성률이 높은 경향을 보였는데 기존의 연구에서도 같은 결과를 보고한 바 있다^{18,19}. Jheon 등의 연구에서 말초형과 중심형으로 나누어서 비교한 결과에 따르면, 말초형의 MAGE 양성률(41.4%)보다 중심형의 양성률(76.5%)이 유의하게 높은 것을 알 수 있는데, 편평상피세포암(68.8%)에서 중심형으로 위치하는 경향이 있어 선암종(18.1%)에서보다 MAGE 양성률이 높을 것으로 추론하고는 있으나, 말초형으로 위치한 편평상피세포암(58.8%)에서도 말초형 선암종(11.1%)보다 MAGE 양성률이 높은 것으로 보아 중심형 종양이라는 요인만 작용하지는 않을 것으로 생각된다¹⁹. 편평상피세포암이 주로 기관지로부터 돌출되는 종괴의 형태로 나타나, 생검은 점막을 침윤하거나 점막 아래의 조직에서 발생하여 주위 조직으로 침윤하는 경우가 많기 때문이라는 주장도 있으나¹⁸ 다양한 방법으로 얻은 많은 수의 검체를 통한 연구가 좀더 필요할 것으로 생각된다. 또한 MAGE 검사의 민감도가 TNM 분류법에 의한 병기 및 T 병기의 정도에 무관한 것으로 나타났으나, 종양의 크기, 위치 및 방사선학적인 소견 등에 따른 영향에 대한 연구 또한 필요할 것으로 사료된다.

양성 폐질환을 대상으로 시행한 MAGE 검사상에서는 결핵과 진균증, 기질화 폐렴, 동정맥 기형 각각 1예에서 양성으로 나타났다. MAGE 유전자가 고환과 태반을 제외한 정상 조직에서는 발현되지 않아, 기본적으로 종양 특이 유전자로 받아들여지고 있으나 Becker 등은 MAGE-I 유전자가 창상 치유의 과정 중의 정상 피부에서도 발현되어 염증이나 조직의 치유 과정 중에도 MAGE 유전자가 관여할 수 있을 것이라 주장하였다³⁴. 또한 MAGE 유전자를 이용한 다른 연구에서도 결핵성 병변에서 양성인 경우를

보고하고 있어서^{10,19}, 결핵 환자의 경우 단순한 오염이 아닌 결핵의 발생 과정 중 생긴 만성 염증으로 인하여 MAGE 유전자가 2차적으로 발현되었을 가능성도 있을 것으로 사료된다¹⁰. 또한 폐암의 전구병변 및 흡연자의 기관지 상피 조직에서도 CpG promoter의 탈메틸화가 확인된 점 등으로 미루어 보면¹³, 종괴가 형성되기 전의 암화 과정일 가능성도 고려해야 할 것이다. 이런 면에서 상기 환자들의 암 발생 등에 대한 장기적인 추적 관찰 또한 필요할 것으로 보인다.

악성균과 양성균 모두 20명 내외의 적은 대상 환자를 대상으로 하였기에 보편화시키기에는 제한점이 있지만, nested RT-PCR 검사를 이용한 MAGE 유전자 진단은 기관지 내시경으로 보이지 않았던 말초형 비소세포폐암 환자의 47.6%에서 양성을 보여, 기존의 세포진검사에 비하여 훨씬 좋은 결과를 보였다. 기존의 연구에서 다양한 검체를 이용한 MAGE의 민감도를 살펴 보면, 폐절제술을 시행한 조직에서 폐암 조직(83.3%) 뿐만 아니라 정상 조직에서도 8.9%에서 양성을 보였으며, 중심형과 말초형이 모두 포함된 연구이기는 하지만 일반 객담 검사로는 41.8~54.3%, 유도 객담 검사는 72.7%, 기관지 세척액 검사는 70.0%의 양성률을 보인 바 있다¹⁹. 폐암의 진단 과정에 있어서, 중심형 폐암의 경우 기관지 내시경을 이용한 조직 검사로 진단이 가능한 경우가 많으나, 말초형 종양의 경우에는 임상적으로 폐암의 가능성이 높은 환자에서 경피적 세침흡인술이나 수술 등을 이용한 적극적인 검사를 시행하게 되는데 기존의 세포진 검사의 민감도로는 임상상의 진단 과정에 크게 도움을 주지 못했던 것이 사실이며, 그런 의미에서 MAGE 검사는 실제 임상에 적용해서 도움이 될 것으로 생각된다. 그러나 양성 폐질환의 25%에서도 MAGE 유전자가 발현되므로, 위양성이 가능하다는 점을 염두에 두고 해석에 주의를 하여야 할 것이며, 다른 검사법과 상호 보완적으로 적용되어야 할 것으로 사료된다. 향후 더 많은 환자를 대상으로 한 전향적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경: 기관지 내시경으로 조직 검사가 불가능한 고립성 폐결절 환자에서 경피적 폐생검이 중요한 진단 방법으로 사용되고 있으나, 기흉 및 출혈 등의 합병증 및 접근성 등이 문제가 된다. 흑색종항원유전자(Melanoma Antigen Gene, MAGE)는 악성 흑색종에서 처음 발견된

종양 항원 및 유전자로서, 비소세포폐암을 비롯한 다양한 암종에서 발현되며 정상 조직에서는 남성의 생식기 세포 및 태반에서만 발현된다. 본 연구는 기관지내시경으로 보이지 않았던 비소세포폐암 환자에서 기관지 세척액을 이용한 *MAGE* 양성 여부를 검사하여 폐암의 진단에 어느 정도 도움이 되는지 알아보고자 하였다.

방 법: 2007년 1월부터 2개월간 삼성서울병원 호흡기 내과에서 기관지 내시경을 시행한 환자 중에서 내시경적 조직 검사가 불가능한 고립성 폐결절 환자 37명을 대상으로 하였다. 기관지 세척을 시행하여 *MAGE* A1-6 RT-nested PCR (iC&G Co, Daegu, Korea)검사와 세포진 검사를 시행하였고, 경피적 폐생검 및 수술을 통한 병리학적인 진단과 비교하였다.

결 과: 37명 중에서 비소세포폐암 환자는 21명(56.8%) 이었고(선암종 13/21, 편평상피세포암 8/21), 나머지 16명(43.2%)은 폐결핵(5), 진균 감염(3), 기질화 폐렴(2) 및 유육종증, 비결핵 항산균 폐질환과 선천성 낭종 등으로 진단되었다. 비소세포폐암 환자에서 세포학적인 검사의 양성률은 9.5% (2/21)에 불과하였으나, *MAGE* mRNA는 47.6% (10/21)에서 양성을 보여 양성 예측률이 71.4%였다. *MAGE* 양성률은 편평상피세포암에서 더 높게 나타났다(선암종 30.8%, 편평상피세포암 75.0%, $p > 0.05$). 양성 병변으로 진단된 16명의 *MAGE* 발현율은 25.0% (4/16)였다.

결 론: 기관지 세척액을 이용한 *MAGE* 검사는 기관지 내시경을 통한 조직검사가 불가능한 고립성 폐결절에서 기존의 세포진검사에 비해 우수한 양성 예측률을 나타내어 폐암의 진단에 도움이 될 것으로 보인다.

참 고 문 헌

1. Korea Central Cancer Registry Center. Annual report of the Korea central cancer registry 2002. Seoul: Ministry of Health and Welfare; 2007.
2. Korea National Statistical Office. Annual report on the cause of death statistics 2002. Seoul: Korea National Statistical Office; 2003.
3. Ito S, Kawano Y, Katakura H, Takenaka K, Adachi M, Sasaki M, et al. Expression of *MAGE-D4*, a novel *MAGE* family antigen, is correlated with tumor-cell proliferation of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2006;51:79-88.
4. Tanaka F, Yanagihara K, Otake Y, Miyahara R, Kawano Y, Nakagawa T, et al. Surgery for non-small cell lung cancer: postoperative survival based on the revised tu-

5. mor-node-metastasis classification and its time trend. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000;18:147-55.
6. Scientific Committee of Korean Academy of Tuberculosis and Respiratory Disease. The national survey of lung cancer in Korea. *Tuberc and Respir Dis* 1999; 46:455-65.
7. Pfister DG, Johnson DH, Azzoli CG, Sause W, Smith TJ, Baker S Jr, et al. American Society of Clinical Oncology treatment of unresectable non-small-cell lung cancer guideline: update 2003. *J Clin Oncol* 2004;22: 330-53.
8. Fong KM, Minna JD. Molecular biology of lung cancer: clinical implications. *Clin Chest Med* 2002;23:83-101.
9. 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.
10. 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.
11. Kim KC, Seo CG, Park SH, Choi WI, Han SB, Jeon YJ, et al. Diagnostic utility of *MAGE* expression in exudative pleural effusion. *Tuberc Respir Dis* 2004;56:159-68.
12. Zendman AJ, Ruiter DJ, Van Muijen GN. Cancer/testis-associated genes: identification, expression profile, and putative function. *J Cell Physiol* 2003;194:272-88.
13. Tsai JR, Chong IW, Chen YH, Yang MJ, Sheu CC, Chang HC, et al. Differential expression profile of *MAGE* family in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2007;56:185-92.
14. Jang SJ, Soria JC, Wang L, Hassan KA, Morice RC, Walsh GL, et al. Activation of melanoma antigen tumor antigens occurs early in lung carcinogenesis. *Cancer Res* 2001;61:7959-63.
15. Gotoh K, Yatabe Y, Sugiura T, Takagi K, Ogawa M, Takahashi T, et al. Frequency of *MAGE-3* gene expression in HLA-A2 positive patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 1998;20:117-25.
16. Shichijo S, Hayashi A, Takamori S, Tsunosue R, Hoshino T, Sakata M, et al. Detection of *MAGE-4* protein in lung cancers. *Int J Cancer* 1995;64:158-65.
17. Weynants P, Lethe B, Brasseur F, Marchand M, Boon T. Expression of *mage* genes by non-small-cell lung carcinomas. *Int J Cancer* 1994;56:826-9.
18. 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.
19. Shin KC, Lee SJ, Kim KJ, Lee JW, Kim HJ, Chung JH,

- et al. The expression of melanoma antigen encoding gene in lung cancer. *Korean J Med* 2005;68:647-55.
19. Jheon S, Hyun DS, Lee SC, Yoon GS, Jeon CH, Park JW, et al. Lung cancer detection by a RT-nested PCR using MAGE A1-6 common primers. *Lung Cancer* 2004;43:29-37.
20. Klein JS, Zarka MA. Transthoracic needle biopsy. *Radiol Clin North Am* 2000;38:235-66.
21. Li H, Boisselle PM, Shepard JO, Trotman-Dickenson B, McCloud TC. Diagnostic accuracy and safety of CT-guided percutaneous needle aspiration biopsy of the lung: comparison of small and large pulmonary nodules. *AJR Am J Roentgenol* 1996;167:105-9.
22. Sanders C. Transthoracic needle aspiration. *Clin Chest Med* 1992;13:11-6.
23. Lee HS, Kwon SY, Kim DK, Yoon HI, Lee SM, Lee JH, et al. Determinants of diagnostic bronchial washing in peripheral lung cancers. *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11:227-32.
24. Goldstein RA, Rohatgi PK, Bergofsky EH, Block ER, Daniele RP, Dantzker DR, et al. Clinical role of bronchoalveolar lavage in adults with pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:481-6.
25. Shure D. Fiberoptic bronchoscopy--diagnostic applications. *Clin Chest Med* 1987;8:1-13.
26. Bilaceroglu S, Kumcuoglu Z, Alper H, Osma E, Cagirci U, Gunel O, et al. CT bronchus sign-guided bronchoscopic multiple diagnostic procedures in carcinomatous solitary pulmonary nodules and masses. *Respiration* 1998;65:49-55.
27. Pirozynski M. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of peripheral, primary lung cancer. *Chest* 1992;102:372-4.
28. Mori K, Yanase N, Kaneko M, Ono R, Ikeda S. Diagnosis of peripheral lung cancer in cases of tumors 2 cm or less in size. *Chest* 1989;95:304-8.
29. Wongsurakiat P, Wongbunnate S, Dejsomritrutai W, Charoenratanakul S, Tscheikuna J, Youngchaiyud P, et al. Diagnostic value of bronchoalveolar lavage and postbronchoscopic sputum cytology in peripheral lung cancer. *Respirology* 1998;3:131-7.
30. Rivera MP, Mehta AC. Initial diagnosis of lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd ed). *Chest* 2007;132:131S-48S.
31. De Smet C, De Backer O, Faraoni I, Lurquin C, Brasseur F, Boon T. The activation of human gene MAGE-1 in tumor cells is correlated with genome-wide demethylation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:7149-53.
32. Fischer C, Gudat F, Stulz P, Noppen C, Schaefer C, Zajac P, et al. High expression of MAGE-3 protein in squamous-cell lung carcinoma. *Int J Cancer* 1997;71:1119-21.
33. Park JW, Kwon TK, Kim IH, Sohn SS, Kim YS, Kim CI, et al. A new strategy for the diagnosis of MAGE-expressing cancers. *J Immunol Methods* 2002;266:79-86.
34. 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.