

Comparison of ThinPrep Cytology and Conventional Cytology in Bronchial Washing for Lung Cancer

Purpose: Liquid-based cytology have been developed and currently used to overcome the limitation of conventional cytology. This study aims to evaluate the differences between conventional cytology and ThinPrep[®] in the bronchial washing. **Materials and Methods:** Both conventional cytology and ThinPrep[®] were performed in the 2,551 cases of bronchial washing, of which, 116 cases of histologically diagnosed as lung cancer were evaluated. **Results:** Among the 116 cases, 23 and 4 cases were negative in conventional cytology and ThinPrep[®], respectively. The thirty eight cases in conventional cytology and 30 cases in ThinPrep[®] were diagnosed as "atypical." Malignant carcinoma was 54 cases and 82 cases in conventional cytology and ThinPrep[®], respectively. The positive predictive value, negative predictive value, sensitivity and specificity were 98.94%, 99.06%, 80.17%, and 99.96%, respectively in conventional cytology. Those were 99.12%, 99.83%, 96.55% and 99.96%, respectively in ThinPrep[®]. **Conclusion:** ThinPrep[®] (liquid-based cytology) revealed higher sensitivity and lower false negative rate than conventional cytology. ThinPrep[®] has many advantages to diagnose the lung cancer from bronchial washing cytology. (J Lung Cancer 2012;11(2):84-88)

Key Words: Cytology, Lung, Lung neoplasms

Jungsuk An, M.D., M.S.
Hyun Yee Cho, M.D., Ph.D.
Dong Hae Chung, M.D., Ph.D.
and Seung Yeon Ha, M.D., Ph.D.

Department of Pathology, Gachon University Gil Medical Center, Incheon, Korea

Received: November 22, 2012
Revised: December 10, 2012
Accepted: December 13, 2012

Address for correspondence
Seung Yeon Ha, M.D., Ph.D.
Department of Pathology, Gachon University Gil Medical Center, Gachon University of Medicine and Science, 21, Namdong-daero 774beon-gil, Namdong-gu, Incheon 405-760, Korea
Tel: 82-32-460-3078
Fax: 82-32-460-2394
E-mail: syha@gilhospital.com

서 론

폐암은 성인의 대표적인 암 질환으로 알려져 있다. 흡연과 대기 오염, 직업에 따른 여러 물질의 노출로 인해 우리나라에서도 계속 폐암환자가 증가하는 추세에 있다(1).

폐암은 절제가 가능한 조기에 발견되어 치료를 하였을 경우 5년 생존율이 80%가 될 수 있다는 보고가 있으므로 조기에 발견하는 것이 중요하다. 그러나, 폐암을 조기에 발견하는 것은 위장관이나 다른 장기에 비하여 쉽지 않다. 폐암의 진단은 흉부 X-ray 검사, 객담, 기관지 내시경을 통한 기관지 세척액 및 조직학적 검사로 확진할 수 있다. 기관지 세척액 검사는 세포학적 검사로 세척액을 원심분리하여 슬라이드에 도말한 후 Papanicolaou 염색을 실시한다. 기존의 고식적 세포도말검사는 슬라이드를 제작하는 과정에서 두껍게 도말이 되거나 너무 얇게 도말이 되면 세포가 겹치거나 세포수가 적어져 진단율이 떨어지는 경우가 많으며 혈액, 점액, 염증세포 등 여러 가지 비특이적 세포소견의 동반

으로 위음성률이 높은 편이다. 그러나, 1990년대에 기존의 고식적 세포도말검사보다 진단율을 높일 수 있는 ThinPrep[®]을 이용한 액상세포검사가 개발되어 현재 여러 가지 분야에서 자주 이용되고 있다(2,3). 개발 초기에는 부인과적 세포검사에서도 주로 시행되었으나 최근 비부인과 세포검사에서도 흔히 이용되고 있다. ThinPrep[®]은 고식적 세포검사의 한계를 극복하기 위해 개발된 장치로 세포 검체를 액체 내에서 고정 및 보존하고 세포가 겹치지 않도록 기계적으로 분산시켜 단층으로 도말한다. 이 검사 방법은 배경이 깨끗하고 세포가 중첩이 없어 균일한 표본을 얻을 수 있으며 경검 범위가 좁고 경검 시간이 단축된다고 알려져 있다.

본 연구에서는 기관지 세척액에서의 폐암의 진단검사 중 고식적인 세포도말검사와 ThinPrep[®]을 이용한 액상세포검사를 비교하여 세포질의 적정성, 고정상태, 그리고 진단의 민감도 및 특이도 등 액상세포검사의 유용성 여부를 알아보고자 한다.

대상 및 방법

1) 연구 대상

가천대 길병원에 내원한 2009년 3월부터 2011년 5월까지 기관지 내시경으로 기관지 세척 검사를 시행 받은 환자 2,551예를 대상으로 하였다. 그 중 임상적 폐암 의진하에 조직검사를 받은 환자는 148명이었으며, 조직학적 검사 결과 폐암으로 확진된 환자는 124명이었다. 124명의 환자 중 기관지 세척 세포검사 슬라이드가 양호한 116예를 대상으로 세포학적 소견을 비교 분석하였다. 각각의 슬라이드를 판독해 악성세포가 관찰되지 않으면 음성(negative)으로, 악성세포로 의심될만한 세포가 관찰되면 악성으로, 그리고 비정형적인 세포가 관찰되면 비정형(atypical)으로 진단하였다.

2) 연구 방법

고식적 세포도말검사는 기관지 세척으로부터 얻어진 세포를 각각 50 mL 튜브에 넣어 원심분리기에서 2,000 rpm으로 5분 동안 원심분리하여 침사를 침전시킨 후 상층액을 제거하여 1 mL의 침사만 남긴다. Cytopanel과 filter card를 슬라이드에 장착 후 cytopspin으로 1,500 rpm으로 6분간 원심분리시킨다. 원심분리가 끝난 후 슬라이드를 95% 알코올로 최소 60분 이상 고정시킨다. 고정이 끝난 슬라이드를 Papanicolaou 염색을 한 후 봉입한다.

액상세포검사는 ThinPrep® 2000 Processor (Cytec, Marlborough, MA, USA)를 이용하였으며, 기관지 세척액은 점액 성분이 많기 때문에 검체를 50 mL 원심분리관에 적당량 넣고 DL-Dithiothreitol (DTT)용액 1 mL와 CytoLyt 용액 20~30 mL를 첨가하여 Multi-Mix Racked Vortexor에 최소한 10분간 잘 혼합시켜 과도한 점액질을 제거시킨다. 이때 DTT 용액은 DTT 1 g에 CytoLyt 용액 13 mL 혼합하여 제조하고 검체당 1 mL씩 사용한다. 잘 혼합된 검체를 원심분리기를 이용하여 1,500 rpm에서 5분간 원심분리 한다. 상층액은 버리고 농축세포를 vortexor를 이용하여 잘 혼합시킨다. 침전물에서 점액 성분이 제거되었는지 확인하고 만일 점액 성

분이 남아 있을 경우 다시 CytoLyt 용액 20~30 mL를 첨가하여 위의 과정을 반복한다. PreservCyt 용액이 담긴 Non-Gyn용 vial에 세척한 농축세포 3~5 방울 정도 넣고 최소한 15분간 그대로 둔다. ThinPrep® 2000 Processor에서 Sequence 3 (Mucoid)을 이용하여 슬라이드를 제작한다. 제작된 슬라이드를 95% 에탄올에서 최소한 15분간 고정시킨 후 Papanicolaou 염색을 한 후 봉입한다.

결 과

총 2,551 증례 중 2,427예는 임상적으로 암종이 아닌 환자를 대상으로 검사를 시행하였으며 한 예를 제외하고 모두 양성으로 진단이 되었다. 한 예는 폐농양 환자였으며 고식적 세포도말검사와 ThinPrep®에서 비정형으로 진단되었다.

악성으로 진단된 116예를 분석하였을 때, 남자는 87명, 여자는 29명으로 남녀 비는 3 : 1이었다. 나이는 28세에서 84세까지 발병하였으며 평균 나이는 66세이었다. 조직검사로 확진된 증례 중 편평세포암종은 49예, 선암종은 41예, 소세포암종은 20예, 대세포암종은 2예, 분화가 되지 않아 분류가 어려운 증례 2예, 그리고 대세포신경내분비암종은 2예이었다.

위음성으로 진단된 경우는 고식적 세포도말검사에서 24예, 액상세포검사에서 9예이었다. 위음성률은 고식적 세포도말검사가 20.7%, 그리고 액상세포검사는 7.8%이었다. 세포 충실성 정도는 광학현미경 $\times 100$ 로 1~5영역을 관찰한 후 0~3까지 등급을 나누었다. 세포가 관찰되지 않을 경우는 0, 세포가 10% 이하로 관찰되면 1, 11~50%까지 관찰되면 2, >50%이면 3으로 하였다. 음성으로 진단되었던 고식적 세포도말검사 24예를 비교해 보았을 때, 등급 0~1이 20예, 2가 3예, 3이 1예가 관찰되었다. 액상세포검사의 9예 중 세포충실성은 0~1에서 8예, 2에서 1예만이 나왔다(Table 1). 0~1 등급의 8예는 고식적 세포도말검사에서 세포가 거

Table 1. Comparison Cytological Cellularity between Cytopsin and ThinPrep®

Cellularity	Conventional cytology	ThinPrep®
0~1	20	8
2	3	1
3	1	0

Table 2. Histologic and Cytological Correlation

Histologic diagnosis	Total	Cytologic diagnosis (%)
Squamous cell carcinoma	49	47
Adenocarcinoma	41	39
Small cell carcinoma	20	20
Large cell carcinoma	2	2
Poorly differentiated carcinoma	2	2
LCNEC	2	2

LCNEC: large cell neuroendocrine carcinoma.

Table 3. Correlation of Histology and Conventional Cytology

Histology	Negative	Atypical	Malignant	Total
Squamous cell carcinoma	9	20	20	49
Adenocarcinoma	10	11	20	41
Small cell carcinoma	3	7	10	20
Large cell carcinoma	1	0	1	2
Other*	0	0	4	4

*Poorly differentiated carcinoma and large cell neuroendocrine carcinoma.

Table 4. Correlation of Histology and ThinPrep[®] Cytology

Histology	Negative	Atypical	Malignant	Total
Squamous cell carcinoma	2	16	31	49
Adenocarcinoma	2	10	29	41
Small cell carcinoma	0	4	16	20
Large cell carcinoma	0	0	2	2
Other*	0	0	4	4

*Poorly differentiated carcinoma and large cell neuroendocrine carcinoma.

Table 5. Comparative Analysis of ThinPrep[®] for Conventional Cytology Diagnosed as 'Atypical'

Histology diagnosis	Cytologic diagnosis (ThinPrep [®])		
	Normal	Atypical	Malignant
Squamous cell carcinoma	1	11	8
Adenocarcinoma	0	7	5
Small cell carcinoma	0	2	3
Large cell neuroendocrine carcinoma	0	0	1
Total	1	20	17

의 관찰되지 않아 0~1등급이었으며, 2등급의 1예는 고식적 세포도말검사에서는 등급 0~1이었다.

폐암 진단율에서 조직진단과 고식적 세포검사와 ThinPrep[®]을 동시에 시행하여 세포진단을 비교했을 때, 편평세포암종 진단율이 95.9% 선암종이 95.1% 소세포암종과 대세포암종은 세포검사에서 100%의 진단율을 보였다(Table 2).

1) 고식적 세포도말검사

편평상피세포암종은 음성이 9예, 비정형이 20예, 악성이 20예였고, 선암종은 음성이 10예, 비정형이 11예, 악성이 20예였고, 소세포암종에서 음성이 3예, 비정형이 7예, 악성이 10예, 그리고 대세포암종에서 음성이 1예, 악성이 1예로 관찰되었다(Table 3).

2) ThinPrep[®]을 이용한 액상세포검사

편평세포암종 49예 중 음성이 2예, 비정형이 16예, 악성이 31예, 선암종 41예 중 음성이 2예, 비정형이 10예, 악성이

29예, 소세포암종은 비정형이 4예, 악성이 16예, 그리고 대세포암종 2예는 모두 악성으로 진단되었다(Table 4).

3) 비정형 증례의 고식적 세포도말검사와 ThinPrep[®]과의 비

고식적 세포도말검사에서 비정형으로 나온 38예를 액상 세포검사로 검사하였을 때 정상이 1예, 비정형이 20예, 악성이 17예로 진단되었다(Table 5). 액상세포검사에서 비정형이 나온 30예를 대상으로 고식적 세포도말검사를 실시하였을 때 진단은 정상이 10예, 비정형이 19예, 악성이 1예이었다(Table 6).

민감도와 특이도를 계산하였을 때 고식적 세포도말검사는 80.17%의 민감도, 99.96%의 특이도이었고 ThinPrep[®]은 96.55%의 민감도와 특이도는 99.96%로 나타났다. 양성예측도와 음성예측도는 고식적 세포도말검사에서 각각 98.94%와 99.06%이었고, ThinPrep[®]에서는 각각 99.12%와 99.83%이었다.

Table 6. Comparative Analysis of Conventional Cytology for ThinPrep® Cytology Diagnosed as 'Atypical'

Histology diagnosis	Conventional cytologic diagnosis		
	Normal	Atypical	Malignant
Squamous cell carcinoma	5	10	0
Adenocarcinoma	4	7	0
Small cell carcinoma	1	2	1
Large cell neuroendocrine carcinoma	0	0	0
Total	10	19	1

고안 및 결론

폐암은 전 세계에서 암사망률이 1위인 암으로(4), 흡연인구의 증가, 대기오염, 평균수명의 증가 등으로 서양에서와 마찬가지로 우리나라에서도 매년 빈도가 증가하고 있다. 폐암을 진단하기 위해서는 여러 가지 방법이 사용되고 있다. 세포검사로서는 가래, 기관지 세척, 기관지 술질, 피하침습 세침흡인검사 등이 주로 이용되고 있으며 검체의 종류에 따라 진단율이 서로 다르게 보고되고 있다. 가래는 64.5%, 기관지 세척 및 술질은 81%, 피하침습 세침흡인검사는 88%, 그리고 기관지 조직 검사는 81.7%로 보고되고 있다(5). 위의 두 가지 검사를 조합하였을 경우 진단율이 95.7%로 높아짐에 따라 폐암의 진단 방법으로 세포학 검사가 필수적인 검사로 시행되고 있다. 특히 기존의 세포검사법인 conventional cytological preparation은 1939년 George Papanicolaou에 의해 처음으로 소개되었으며, 현재까지 질병 진단의 중요한 검사법으로 사용되고 있다. 하지만 슬라이드 위에 세포도말이 두껍게 되어 중첩이 심한 경우, 점액이 많거나 혈액이 많이 포함된 경우 그리고 희석을 많이 하여 세포 수가 적은 경우에는 진단에 어려움이 많다. 이로 인한 위음성률이 55%까지도 보고되고 있다(6). 최근에 이런 기존의 세포검사법을 보완하여 액상세포검사법(liquid-based cytology)으로 ThinPrep® 2000 Processor가 개발되어 상용화되었으며 암의 세포학적 진단의 초기 방법으로 사용되고 있다. 최근에는 부인과 영역 이외에도 비부인과 분야에도 사용되어 진단율이 높은 것으로 보고되고 있으며 기존 세포도말검사에 비해 혈액, 점액 등 세포 파편 등을 제거하고 적정한 세포 수를 유지시켜 주면서 세포의 중첩 등을 방지하여 깨끗한 표본을 얻을 수 있게 하여 세포검사의 판독을 용이하게 한다. 이 검사법은 초기에 질 또는 자궁경부의 세포검사에 사용되었으나 최근에 비부인과 검사에도 승인이 되어 세침흡인검사까지 적용되고 있다(7-11). 폐암을 진단할 때 필수적으로 사용하는 기관지 세척 검체는 점

액이 많이 섞여있고 점액 용해제를 사용하더라도 검체의 양을 조절하기 힘들기 때문에 ThinPrep®을 이용한 액상세포검사가 더 좋은 결과를 보여주고 있다(6,12-14).

이번 연구에서도 위음성으로 진단되었던 증례가 고식적 세포도말검사에서 두 배 이상 높았으며 그 중 세포의 충실성이 낮은 예가 고식적 도말검사에서 24예 중 20예이었다. 20예를 ThinPrep®으로 관찰하였을 때 8예를 제외한 12예는 비정상 또는 암종으로 진단되었다. 세포 밀도가 적절하지 않았던 예를 제외하면 고식적 세포도말검사의 위음성률은 10.3%이고, ThinPrep®에서는 0.9%로 액상세포검사 방법에서 위음성률이 감소함을 알 수 있었다.

각 폐암의 조직학적 분류에 따른 진단 시에 두 세포검사 사이의 결과에는 유의한 차이를 보이지는 않았으나 편평세포암종과 소세포암종이 선암종보다 진단율이 다소 높았으며 이는 종괴의 발병 위치가 편평세포암종과 소세포암종이 폐 중심부에 호발하고 선암종은 상대적으로 말단부에 호발하는 차이에 따른 것으로 생각된다.

고식적 세포도말검사에서 비정형으로 나타난 38예를 대상으로 ThinPrep® 검사를 시행하였을 때 정상이 1예, 비정형이 20예, 악성이 17예로 관찰되었다. 반대로 ThinPrep®에서 비정형으로 나타난 30예를 대상으로 고식적 세포도말검사 결과를 비교해 보면 악성은 1예만 발견이 되었고 정상이 10예로 많은 수가 나왔다. 이는 ThinPrep®을 이용한 액상세포검사가 좀더 진단율이 높다고 볼 수 있는 증거가 된다.

민감도를 조사해 보아도 고식적 세포도말검사는 80.17%이며, ThinPrep®을 이용한 액상세포검사의 민감도는 96.55%로 진단율이 매우 높음을 알 수 있다.

여러 가지 장점이 있지만 ThinPrep®을 이용한 액상세포검사는 기계의 도입비용, 보존용액, 보존액 등의 비용이 비싸다는 단점이 있다. 그리고 표본제작에 시간이 많이 걸리며 액체상 검체의 보존 장소가 필요한 것도 단점으로 꼽힌다. 진단에는 큰 영향을 주지 않지만 핵 크로마틴이 약간 열게 염색이 되기도 한다. 이와 같은 단점에도 불구하고 표본을 자동화하여 판독을 용이하게 하며, 남은 세포 부유액

으로 동소고압법, 면역조직화학염색, 유세포분석 등의 추가 검사를 시행할 수 있고, 동일 검체로부터 자동화에 적합한 세포진 검체를 다수 제작하는 것이 가능한 장점이 있어 ThinPrep®을 이용한 액상세포검사의 필요성이 매우 높다고 볼 수 있다.

초기 폐암 진단법으로 기관지 세척 검체에서 ThinPrep®을 이용한 액상세포검사(96.65%)는 기존의 고식적 세포도말검사(80.17%)에 비해 높은 민감도를 나타내었다. 비록 가격이 비싸며 슬라이드를 만드는 시간이 차이가 없다 해도 ThinPrep®은 이용한 액상세포검사는 초기 폐암진단용으로 폐암의 진단율을 높이는 데 좋은 선택이 될 수 있다고 생각되지만 초기 폐암진단에는 아직 미흡한 점이 많으므로 앞으로 더 많은 연구가 필요하다고 판단된다.

REFERENCES

1. Lee CT. Epidemiology of lung cancer in Korea. *Cancer Res Treat* 2002;34:3-5.
2. Lee KR, Ashfaq R, Birdsong GG, Corkill ME, McIntosh KM, Inhorn SL. Comparison of conventional Papanicolaou smears and a fluid-based, thin-layer system for cervical cancer screening. *Obstet Gynecol* 1997;90:278-284.
3. Hoda RS. Non-gynecologic cytology on liquid-based preparations: a morphologic review of facts and artifacts. *Diagn Cytopathol* 2007;35:621-634.
4. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. *Cancer statistics, 2010*. CA Cancer J Clin 2010;60:277-300.
5. Kini SR. *Color atlas of differential diagnosis in exfoliative and aspiration cytopathology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p.191-293.
6. Linder J. Recent advances in thin-layer cytology. *Diagn Cytopathol* 1998;18:24-32.
7. Compton J, Boyle E, Barck M, Jicha D, Reale FR. Sputum cytology: a comparison of two methods, the conventional cytological preparation and the Thin-Prep Processor [abstract]. *Acta Cytol* 1993;37:797.
8. Miller FS, Pizzo CJ. Cytospin vs. thin-layer technology: nongynecologic evaluation [abstract]. *Acta Cytol* 1993;37:798.
9. Burroughs FN, Erozan YS. Comparison of ThinPrep and conventional preparation in alimentary tract cytopathology [abstract]. *Acta Cytol* 1993;37:801.
10. Kish JK, Valleria DU, Ruby SG, et al. Comparative study of nongynecologic processing by ThinPrep vs. conventional methodology: rationale for the use of ThinPrep [abstract]. *Acta Cytol* 1993;37:801.
11. Papillo JL, Lee KR, Manna EA. Clinical evaluation of the ThinPrep method for the preparation of nongynecologic material. *Acta Cytol* 1992;36:651-652.
12. Cytye Corporation. Operator's manual: Thin-Prep Processor. Marlborough: Cytye Corporation; 1993.
13. Kim SH, Kim EK, Shi KD, et al. A comparison of conventional cytology and ThinPrep cytology of bronchial washing fluid in the diagnosis of lung cancer. *Tuberc Respir Dis* 2007;62:523-530.
14. Lee JH, Yang JK, Jung IB, et al. Comparison of Thinprep (liquid-based cytology) and conventional cytology: abnormal lesion on bronchoscopy. *Tuberc Respir Dis* 2006;61:547-553.