

The Relationship between Papanicolaou Smear Test and Human Papilloma Virus DNA Chip Test in the Uterine Cervix

Young-Ju Lee, Ji-Hun Jung, and Da-Young Jung

Department of Pathology, Jeollabukdo Gunsan Medical Center, Gunsan 573-713, Korea

The genotypes of Human Papilloma Virus (HPV) are important in the carcinogenesis of uterine cervical cancer. Diagnosis of uterine cervical cancer screening has been executed using Papanicolaou method (Pap) and HPV DNA Chip method. We researched the interrelation of HPV DNA genotypes in single and multiple infections and analyzed the results of Pap and HPV DNA Chip tests at Gunsan Medical Center (GMC). The correlation analysis was surveyed on collected results from 599 patients who have been tested with both Pap and HPV DNA chip tests from November 2004 to May 2010 at GMC. The inconsistency between Pap and HPV DNA Chip tests was 41.1%. The HPV DNA Chip genotype related with high risk cases were type 16 (13.5%), type 52 (10.5%), type 58 (10.1%), and type 18 (3.4%). Those related with low risk cases were type 70 (8.9%), type 6 (1.7%), type 40 (1.2%), type 11 (1.3%), and other types (14.3%). Among the 195 cases of HPV positive status, 161 cases were associated with single infection; 108 (67.1%) cases were related with high risk genotype; 19 (11.8%) cases were low risk genotype; 31 (21.1%) cases were related with other types. 29 cases were associated with double infections; 23 (79.3%) cases were high risks; 5 (17.2%) cases were mixed high and low risks; 1 (3.5%) case was low risk.

Key Words : Human papillomavirus (HPV), Papanicolaou smear test (Pap), HPV DNA Chip.

서론

우리나라에서 자궁경부암은 유방암, 위암과 대장암에 이어 네 번째로 많이 발생하며(강과 이, 2008), 자궁경부 상피 내암을 포함할 경우 여성암 중 발병 빈도가 높은 질환이다. 자궁경부암과 Human papilloma virus (HPV) 감염과의 많은 연구가 이루어지면서, 자궁경부암의 발생은 전 세계에서 HPV 감염과 연관되어 있다고 보고 되고 있다(Walboomers 등, 1999; 김 등, 2009). HPV는 약 8,000개의 염기쌍으로 구성된 이중나선 DNA 유전체를 가진 바이러스로, 현재까

지 알려진 HPV는 100가지 이상이며, 지금까지 연구를 통해 40여 가지가 생식기 감염과 연관되어 있음이 밝혀졌고, 이 중 20여 가지 아형이 자궁경부암 환자에게서 분리되었다(Walboomers 등, 1999; 정 등, 2010).

HPV genotype은 발암성의 발생기전과 관련하여 고위험군과 저위험군으로 나누며 고위험군에 속하는 아형으로는 HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73, 82이고 저위험군은 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81 등이다(Munoz 등, 2003). 자궁경부암과 전암성 병변의 선별검사로 자궁경부 세포진 검사는 편리성 저비용 등의 장점으로 많이 사용되고 있으며, HPV 감염 여부를 진단하는 방법으로는 polymerase chain reaction (PCR), in situ hybridization, hybrid-capture assay, HPV DNA chip 검사가 소개되고 있다(강과 이, 2008).

HPV 감염여부를 알기 위한 여러 가지 방법들 중에서 PCR 방법을 이용한 HPV DNA chip은 20여종 이상의 다양한 아형의 HPV를 파악할 수 있을 뿐만 아니라 다중의 감염

Corresponding author : Lee, Young-Ju, Department of Pathology, Jeollabukdo Gunsan Medical Center, Gunsan 573-713, Korea
TEL : 063-472-5373, Fax: 063-472-5374
E-Mail: lj9929@naver.com

Received: 23 February 2011
Return for modification : 13 March 2011
Accepted : 16 March 2011

을 발견하기도 용이하며, PCR 방법을 사용하였기 때문에 낮은 개체수의 HPV도 검출할 수 있어 민감도가 높아 그 유용성이 기대되고 있다(이 등, 2005).

이에 군산의료원 산부인과에서 의뢰되는 Papanicolaou smear test (Pap 검사)와 HPV DNA chip법의 병행을 통하여 자궁경부암 진단의 선별검사를 시행하게 된 이후 두 검사간의 결과를 분석하고 HPV DNA genotype, 단일 및 중복 감염 등에 대하여 알아보고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

2004년 11월부터 2010년 5월까지 군산의료원 산부인과에 내원한 환자 중에 Pap 검사와 HPV DNA chip을 병행한 환자 599명을 대상으로 하였다

2. 방법

1) Papanicolaou smear 검사

Pap 검사는 cytobrush을 이용한 통상적인 세포진 검사 방법으로 시행되었으며 검사결과 분류는 Bethesda system (TBS)을 사용하였다.

2) HPV DNA chip

HPV DNA chip 검사는 환자의 질에 멸균된 speculum을 삽입하고 검체 채취용 sampler에 포함된 brush로 자궁경부 세포를 채취하고 cytobrush 자체를 전용용기에 담아 오면 삼광 의료 재단에 검사를 의뢰하였다.

HPV DNA chip (My Gene Company, Seoul, Korea)은 채취된 자궁경부 세포에서 HPV DNA를 추출하여 PCR 법을 통해 증폭 시킨 후 각각의 저위험군과, 고위험군을 포함하여 HPV 특이 염기서열이 점적된 oligonucleotide chip에 반응시켜 유전자형을 검사하는 방법으로 삼광의료재단에 의뢰하여 얻어진 결과를 가지고 시행하였다.

HPV Genotype 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 66, 68을 고위험군으로 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44, 70을 저위험군으로 하여 각각의 HPV 감염여부를 판정하였다.

3. 분석

Pap과 HPV DNA chip 검사 결과를 바탕으로 두 검사결과의 일치/불일치, HPV DNA genotype, 단일 및 중복 감염 등에 대하여 분석하였다.

결 과

1. 대상 환자군의 연령분포

본원에서 시행한 Pap 및 HPV DNA Chip을 시행한 총 599명의 환자들의 평균연령은 42.2세(25-82세) 였으며 연령별 구성은 15-29세(2.2%), 30-39세(17.4%), 40-49세(27%), 50-59세 (27%), 60-69세(13.5%), 70세 이상(5.3%) 이었다(Table 1).

Table 1. Age distribution of patients

Age (yrs)	Number of patients (%)
15-29	13 (2.2)
30-39	104 (17.4)
40-49	162 (27)
50-59	162 (27)
60-69	81 (13.5)
>70	32 (5.3)
Total	599 (100)

2. Papanicolaou smear 검사 결과

자궁경부 세포진 검사의 결과는 음성은 261예(43.6%), atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS)는 192예(32.1%), atypical glandular cells of undetermined significance (AGUS)는 4예(0.7%), atypical squamous cells suspicious of high grade squamous intraepithelial lesion (ASC-H)은 9예(1.5%), low grade squamous intraepithelial lesion (LSIL)은 114예(19%), high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL)은 10예(1.7%), carcinoma (CA)는 6예(1%), carcinoma in situ (CIS)는 2예(0.3%), unsatisfactory는 1예(0.1%)순으로 관찰되었다 (Table 2).

Table 2. Cytologic diagnosis of patients by Papanicolaou smear

Diagnosis*	Number of patients (%)
Negative	261 (43.6)
ASCUS	192 (32.1)
AGUS	4 (0.7)
ASC-H	9 (1.5)
LSIL	114 (19)
HSIL	10 (1.7)
CA	6 (1)
CIS	2 (0.3)
Unsatisfactory	1 (0.1)
Total	599 (100)

*ASCUS, atypical squamous cells of undetermined significance; AGUS, atypical glandular cells of undetermined significance; ASC-H, atypical squamous cells suspicious of high grade squamous intraepithelial lesion; LSIL, low grade squamous intraepithelial lesion; HSIL, high grade squamous intraepithelial lesion; CIS, carcinoma in situ; CA, carcinoma

3. HPV DNA chip 결과 및 아형 분포

HPV DNA chip 검사결과는 음성이 67.4%, 양성인 32.6%이었다. 고위험군(67.7%), 저위험군(10.3%), 고-저위험군(4.6%), 기타(17.4%)의 순으로 나타났으며, 단일감염은 82.6%, 이중감염은 14.9%이었으며, 삼중감염과 사중 감염도 각각 1.0%와 1.5%로 나타났다.

HPV DNA genotype은 고위험군 16형(13.5%), 52형(10.6%), 58형(10.1%), 53형(7.6%), 66형, 33형은(4.6%),

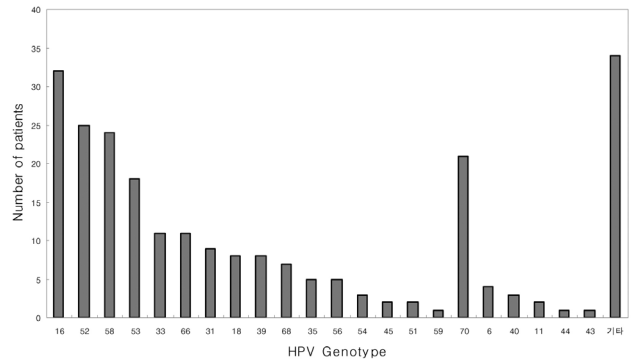


Fig. 1. Numbers of cases infected with individual HPV genotype

Pap 검사 음성의 HPV DNA Chip결과는 음성(80.1%), 고위험군(13.4%), 저위험군(0.5%), 혼합형(1.2%), 기타(3.8%) 순으로 관찰되었다(Table 3).

ASCUS의 HPV DNA Chip결과는 음성(63.5%), 저위험군(5.7%), 고위험군 (21.4%), 고-저위험군(1.6%), 기타(7.8%)로 관찰되었고, ASC-H의 HPV DNA Chip 결과는 음성(55.6%), 고위험군(33.3%), 기타(11.1%), LSIL의 HPV DNA Chip 결과는 음성(56.1%), 저위험군(44%), 고위험군(30.7%), 고-저위험군(2.6%), 기타(6.2%)순으로 관찰되었다(Table 3).

HSIL의 HPV DNA Chip결과는 음성(10%), 고위험군(90%)로 관찰되었으며, CIS의 HPV DNA Chip 결과는 고위험군(100%)를 CA는 HPV 음성(33.3%), 고위험군(66.7%)로 관찰되었고 AGUS는 HPV DNA Chip결과 고위험군(75%),

Table 3. HPV DNA Groups according to cytologic diagnosis

HPV DNA Group*	Cases of Cytologic diagnosis [†] (%)									Total
	Negative	ASCUS	ASC-H	LSIL	HSIL	CIS	CA	AGUS	Unsatisfactory	
High risks	35 (13.4)	41 (21.4)	3 (33.3)	35 (30.7)	9 (90)	2 (100)	4 (66.7)	3 (75)		132
Low risks	4 (1.5)	11 (5.7)		5 (44)						20
High-low risks	3 (1.2)	3 (1.6)		3 (2.6)						9
Others	10 (3.8)	15 (7.8)	1 (11.1)	7 (6.2)				1 (25)		34
Negative	209 (80.1)	122 (63.5)	5 (55.6)	64 (56.1)	1 (10)		2 (33.3)		1 (100)	404
Total	261 (100)	192 (100)	9 (100)	114 (100)	10 (100)	2 (100)	6 (100)	4 (100)	1 (100)	599

* High risks of HPV are type 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 66, and 68. Low risks are type 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44, and 70.
[†] Abbreviations are the same of Table 2.

Table 4. Effects of quality improvement process in histological fixation process of modified radical mastectomy tissue

Cytologic diagnosis	HPV DNA multiple infection									Total (%)
	Single infection (n=161)			Dual infection (n=29)			Triple infection (n=2)		Quadruple infections (n=3)	
	High	Low	Others	High	Low	H-Low	High	H-Low	H-Low	
Negative	29 (26.9)	4 (21.05)	10 (29.4)	6 (26.1)		1 (20)		1 (100)	1 (33.3)	52 (100)
ASCUS	35 (32.4)	11 (57.9)	15 (44.2)	6 (26.1)		2 (40)			1 (33.3)	70 (100)
AGUS	3 (2.8)		1 (2.9)							4 (100)
ASC-H	3 (2.8)		1 (2.9)							4 (100)
LSIL	27 (25)	4 (21.05)	7 (20.6)	7 (30.4)	1 (100)	2 (40)	1 (100)		1 (33.3)	50 (100)
HSIL	6 (5.5)			3 (13.1)						9 (100)
CA	5 (4.6)			1 (4.3)						6 (100)
Total	103 (100)	19 (100)	34 (100)	22 (100)	1 (100)	5 (100)	1 (100)	1 (100)	3 (100)	189 (100)

기타(25%), unsatisfactory는 HPV DNA Chip결과 음성(100%)로 관찰되었다(Table 3). 이들 결과의 진단 일치율은 58.9%이었다.

5. 중복감염

HPV DNA Chip 결과 양성으로 중 단일감염의 고위험군(67.1%), 저위험군(1.8%), 기타(21.1%)로 관찰되었으며, 이중감염은 고위험군(79.3%), 고-저위험군(17.2%), 저위험군(3.5%)를 삼중감염은 고위험군(50%), 고-저위험군(50%)를 사중감염은 고-저위험군(100%)로 관찰되었다(Table 4).

6. Multiple HPV infection 환자의 pap 결과비교

단일감염의 고 위험군을 나타내는 환자의 Pap 결과는 negative (26.9%), ASCUS (32.4%), AGUS (2.8%), ASC-H (2.8%), LSIL (25%), HSIL (5.5%), CA (4.6%), 저 위험군의 환자는 negative (21.05%), ASCUS (57.9%), LSIL (21.05%), 기타형은 negative (29.4%), ASCUS (44.2%), AGUS (2.9%),

ASC-H (2.9%), LSIL (20.6%)로 관찰되었으며 이중감염의 고위험군 환자의 Pap 결과는 negative (26.1%), ASCUS (26.1%), LSIL (30.4%), HSIL (13.1%), CA (4.3%)로 저위험군 환자는 LSIL (100%)로 고-저위험군 환자는 negative (20%), ASCUS (40%), LSIL (40%)로 관찰되었고 삼중감염의 고위험군 환자는 LSIL (100%), 고-저위험군 환자는 negative (100%)로 관찰, 사중감염은 고-저위험군으로 negative (33.3%), ASCUS (33.3%), LSIL (33.3%)로 나타났다(Table 4).

고 찰

현재까지 자궁경부암의 원인에 대해 명백히 밝혀진 바는 없으나 역학적 연구결과들에 의하면 성적접촉(다수의 성적 접촉, 특히 젊은 나이에 시작된 성적 접촉), 흡연, 감염 등이 연관성이 있는 것으로 알려져 왔고, 특히 HPV의 지속적인 생식기 감염이 자궁경부암 및 전암 병변의 발생과 밀접하

게 연관된 것으로 알려지면서 HPV의 감염을 진단할 수 있는 선별검사법에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Ho 등, 1995; Drain 등, 2002; 박 등, 2003).

자궁경부암의 조기진단 선별검사인 Pap 검사가 보편화되면서 자궁경부암의 발생률과 사망률을 크게 감소시키고 있으나 위음성률이 높아 완벽한 검사를 할 수는 없으며, 자궁경부암의 조기발견이 가능한 질환이나 Pap 검사의 진단의 정확도 전체적으로 45%에 불과하다고 하였다(Lee 등, 1997).

본원에서 Pap 검사를 보완하고자 HPV DNA Chip검사를 추가로 시행 후 결과를 비교 하였을 때 결과는 두 검사간의 진단 일치율은 58.9%, 불일치율은 41.1%였다. 검사간의 진단이 일치하지 않은 경우는 1) 세포 도말표본의 오류(건조, 두껍게 도말, 염증 등), 2) 표본처리과정의 오류, 3) 채취 오류, 4) 판독자의 판독오류 등의 원인을 추정해 볼 수 있다.

임상의사들 간의 검체 채취의 처리과정이 다르고 두 검사를 동시에 시행하는데 있어 Pap 검사의 판독의 객관성의 결여를 생각할 수 있다. Pap 검사와 HPV 진단의 일치율을 높이기 위해서는 임상 의사 교육과 병리 의사의 판독능력을 높이기 위한 지속적인 교육과 훈련이 필요하고 병리 의사와 임상 의사간의 정보교환을 통해 반복되는 오류의 원인에 대한 해결책을 찾아 개선해야 한다고 생각한다.

세계적으로 가장 많은 감염을 보이는 아형은 HPV 16, 18, 45, 33 이지만 지역마다 차이를 보이며, HPV 16, 18은 자궁경부암과 가장 밀접한 관련이 있는 걸로 알려져 있지만 HPV 31, 33, 52, 58도 자궁경부암과 관련이 있다고 한다(이 등, 2005). 한국 보고에 의하면 가장 높은 감염률을 보이는 아형이 HPV 16이며 그다음은 58, 52로 보고 하였다(An 등, 2003; Hwang 등, 2004).

본 병원에서 HPV DNA Chip검사 아형의 발생빈도는 고위험군에서는 16형, 52형, 58형, 52형, 53형, 33형, 31형 39형, 18형, 66형, 68형, 35형의 순이며 저위험군에서는 70형, 6형이 관찰 되었다. 정 등(2010)의 보고에 의하면 HPV 70은 저위험군에 속하여 생식기 부위 사마귀를 나타낸다고 알려져 있으나 고 위험군의 세포변화를 보이며 특히 40대 이상에서 HPV 70감염이 나타나면 정기적인 추적관찰을 통한 관리를 해야 할 것으로 생각된다(정 등, 2010).

다중감염은 상피 내 종양과 연관성이 높은 것으로 보고되고 있지만 임상적인 의미에 대해서는 연구자들 간의 차이를 보이며 결론을 내리기는 어려운 실정이다(Fife 등, 2001; Sasagawa 등, 2001; Beerens 등, 2005). 다중감염과 자궁경부암과의 연관성에 대한 보고도 있는데, Lee 등은 다중감염이 있는 경우, 정상인에 비해 자궁경부암의 상대 위험성이 31.8배인데 반하여, 단일감염의 경우는 19.9배로서 다중 감염 시 자궁경부암의 발생빈도가 더 높다고 보고하고 있다(Lee 등, 2003).

HPV가 감염되었다 하더라도 일시적이며 환자의 면역 체계에 의해 제거되며 자궁경부암은 서서히 세포변화가 진행되는 질환이므로 세포검사나 HPV DNA Chip 검사, 조직 검사를 병행하면서 계속적으로 추적 관찰이 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. An HJ, Cho NH, Lee SY, Kim IH, Lee C, Kim SJ, *et al*. Correlation of cervical carcinoma and precancerous lesions with human papillomavirus (HPV) genotypes detected with the HPV DNA chip microarray method. *Cancer*. 2003, 97:1672-1680.
2. Beerens E, Van Renterghem L, Praet M, Sturtewagen Y, Weyers S, Temmerman M, *et al*. Human papillomavirus DNA detection in women with primary abnormal cytology of the cervix: prevalence and distribution of HPV genotypes. *Cytopathology*. 2005, 16:199-205.
3. Drain PK, Holmes KK, Hughes JP, Koutsky LA. Determinants of cervical cancer rates in developing countries. *Int J Cancer*. 2002, 100:199-205.
4. Fife KH, Cramer HM, Schroeder JM, Brown DR. Detection of multiple human papillomavirus types in the lower genital tract correlates with cervical dysplasia. *J Med Virol*. 2001, 64:550-559.
5. Ho GY, Burk RD, Klein S, Kadish AS, Chang CJ, Palan P, *et al*. Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst*. 1995, 87:1365-1371.
6. Hwang HS, Park M, Lee SY, Kwon KH, Pang MG. Distribution and prevalence of human papillomavirus genotypes in routine pap smear of 2,470 korean women determined by DNA chip. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2004, 13:2153-2156.

7. Lee HB, Kang JB, Kim HB, Lee KY, Kang SW. Study for early cervicalneoplasia confirmed by cervical conization. *Korean J Gynecol Oncol Colposc.* 1997, 8:227-232.
8. Lee SA, Kang D, Seo SS, Jeong JK, Yoo KY, Jeon YT, *et al.* Multiple HPV infection in cervical cancer screened by HPV DNA Chip. *Cancer Lett.* 2003, 198:187-192.
9. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med.* 2003, 348:518-527.
10. Sasagawa T, Basha W, Yamazaki H, Inoue M. High-risk and multiple human papilloma virus infections associated with cervical abnormalities in Japanese women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001, 10:45-52.
11. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999, 189:12-19.
12. 강지민, 이회정. HPV 백신시대에 HPV DNA Chip 검사의 임상 효용성. *대한진단검사의학회지.* 2008, 28:70-78.
13. 김성희, 이가영, 박태진, 김준수, 김은미, 오혜숙. 일부여성에서 인유두종 바이러스 감염률과 관련요인. *가정의학회지.* 2009, 30:972-978.
14. 박현경, 강영미, 박재묵, 최영조, 김영남, 정대훈, 김기태. 자궁경부암과 자궁경부상피내종양의 등급에 따른 인유두종 바이러스의 감염양상. *대한부인종양콜포스코피학회지.* 2003, 14:123-132.
15. 이원식, 박종택, 이기현, 성석주, 정소은, 이낙우, 이규완. 자궁경부 세포진 검사상 미확정 비정형 편평세포를 보인 환자에서 HPV DNA Chip 검사의 유용성. *부인종양.* 2005, 16:323-332.
16. 정주현, 조현이, 김나래, 정동해, 박상희, 하승연. 자궁경부 Human papillomavirus DNA Chip 검사의 분석. *대한병리학회지.* 2010, 44:77-82.