

주변부 폐암에서 기관지세척액을 이용한 MAGE유전자검사법의 임상적 유용성

영남대학교 의과대학 ¹내과학교실, ²영남대학교병원 호흡기전문질환센터

김규진^{1,2}, 최은영^{1,2}, 신경철^{1,2}

MAGE Gene Expression in Bronchial Washing Fluid in Suspected Parenchymal Lung Cancer

Kyu Jin Kim, M.D.^{1,2}, Eun Young Choi, M.D.^{1,2}, Kyeong-Cheol Shin, M.D., Ph.D.^{1,2}

¹Department of Internal Medicine, and ²Regional Center for Respiratory Disease, Yeungnam University Medical Center, Yeungnam University College of Medicine, Daegu, Korea

Background: The main goal of this study was to evaluate the diagnostic efficacy of reverse transcription-nested polymerase chain reaction (RT-nested PCR) in bronchial washing fluid with MAGE A1-6 common primers for the detection of lung cancers invisible by bronchoscopy.

Methods: To determine the expression of MAGE A1-6 gene in 189 lung cancers diagnosed by conventional fluoroscopy-guided lung biopsy and 89 cancer-free controls, RT-nested PCR was performed in bronchial washing specimens. We analyzed MAGE A1-6 RT-nested PCR data according to tumor histology, stage, size, and compared them with cytological data.

Results: 189 patients (111 cases in adenocarcinoma, 47 cases in squamous cell carcinoma, 22 cases in small cell lung carcinoma, and 9 cases in other cancers) and 89 benign patients were investigated. The expression of MAGE was performed by nested RT-PCR using common MAGE primer. Among 189 cancer patients, the expression rate of MAGE was 49.2%, and the positive predictive value was 89.4%. However, the expression rate of MAGE in patients with benign lesions was 12.4%. In peripheral lung cancer, the positive rate of MAGE expression was 57.4% in squamous cell carcinoma, 44.1% in adenocarcinoma and 59.1% in small cell lung cancer. Whereas the expression rate of bronchial washing cytology in peripheral lung cancer was 9.0% (p=0.011).

Conclusion: MAGE RT-PCR in bronchial washing fluid gave us promising data for the detection of peripheral lung cancer. It could be a useful method for selecting diagnostic tools for peripheral lesions.

Key Words: Lung Neoplasms; Early Detection of Cancer; Melanoma-Specific Antigens; Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

서 론

건강검진이 보편화되면서 폐실질 병변이 발견되는 경우가 증가하고, 이들 병변을 정확하게 진단하는 것은 많은

임상의사들이 직면한 중요한 과제가 되었다. 흉부 전산화 단층촬영은 민감도가 높고 해부학적으로 정확한 정보를 제공하지만 조직학적 정보를 제공할 수 없으며¹, 기관지내시경은 중심부 질환에는 유용한 진단수단이지만 폐실질에 발생한 병변을 진단하는 데는 한계가 있다. 폐실질 병변을 진단할 때에는 주로 피부경유 바늘 생검(percutaneous needle biopsy, PCNB)이 이용되는데 민감도와 정확도는 비교적 높으나 기흉이나 폐출혈, 검사 후 심한 통증 등이 검사에 따른 합병증으로 발생하는 경우가 종종 있다²⁻⁴. 대부분 폐암환자는 고령이며 폐기종이나 폐섬유화증과 같은 만성 폐질환을 이미 가지고 있는 경우가 많은

Address for correspondence: **Kyeong-Cheol Shin, M.D., Ph.D.**
Department of Internal Medicine, Yeungnam University College of Medicine, 317-1, Daemyeong 5-dong, Nam-gu, Daegu 705-717, Korea
Phone: 82-53-620-3850, Fax: 82-53-654-8386
E-mail: shin1014@ynu.ac.kr

Received: Oct, 29, 2011

Revised: Nov, 28, 2011

Accepted: Jan, 9, 2012

데, 이런 환자에게 PCNB는 검사 후 합병증이 발생할 가능성이 더욱 높아 침습적이지 않거나 비교적 덜 침습적인 검사방법이 필요하다. 객담은 폐암을 진단하는데 유용한 검체이지만 좋은 질의 객담을 얻기는 어려우며, 기관지세척액은 침습적인 방법으로 얻어야 하지만 검체의 질은 객담보다 훨씬 우수하여 폐암진단에 필요한 분자표지자를 연구하기에는 적합한 것으로 인정되고 있다. 폐암을 진단하기 위하여 기관지세척액을 이용한 분자표지자진단법은 이미 많이 보고되었으나 임상현장에서 이용하기 위해서는 검사법이 간단하고 검체를 얻기 편리하며, 무엇보다도 결과의 재현성이 좋아야 할 것이다.

Melanoma-associated antigen (MAGE)은 고환과 태반 이외 정상조직에는 발현되지 않고 악성 종양에만 발현되기 때문에 종양 특이 항원(tumor specific antigen)으로 알려져 있는데, 특히 Park 등⁵은 MAGE유전자 중 A1-6까지 동시에 검출할 수 있는 공통시발체(MAGE A1-6 common primer)를 이용하여 폐암조직 및 기관지세척액에서 MAGE-A유전자 발현을 확인할 수 있는 새로운 방법을 보고하여 임상에 사용될 수 있는 가능성을 제시하였다.

본 연구는 폐실질에 발병한 병변에서 기관지세척액 내 MAGE유전자 발현 여부를 확인하여 주변부 폐암을 진단하는데 있어 선별 검사로 MAGE유전자검사법의 유용성을 확인하는 것이 목적이다.

대상 및 방법

1. 대상

2008년 5월부터 2010년 8월까지 영남대학교병원 호흡기내과를 방문하여 흉부영상에서 폐실질 병변이 확인된 278명의 환자를 대상으로 하였다. 이미 폐암으로 진단받고 추적관찰 중인 환자는 제외하였으며 모든 환자에 대하여 기관지내시경 검사를 하기 전 흉부 전산화 단층촬영을 하였다. 최종진단은 조직학적 및 세균학적 결과로 진단하였는데, 진단에 이용된 조직 검사는 대부분 PCNB였으며 흉막 생검, 림프절 생검, 수술로 진단한 경우도 있었다. 기관지 세척액에서 MAGE-A유전자의 발현 여부와 암세포 검사(conventional cytology)를 하였으며, 암세포 검사는 class I~V 중 class IV~V를 유의한 진단으로 인정하였다. 모든 검체는 동일한 병리 의사에게 의뢰하여 결과를 확인하였다. 대상환자 278명 중 폐암 189예, 양성질환은 89예였으며 양성질환자를 대조군으로 하였다. 이 연구는 영남대학병원 임상시험심사위원회(Institutional Review

Board)의 승인을 받아 전향적으로 연구되었다.

2. 연구방법

1) **기관지세척액 채취**: 기관지내시경 전날 환자는 자정 이후 금식하였고 10% xylocaine으로 부분마취 후 5.8 mm 기관지내시경(Pentax, Tokyo, Japan)을 이용하여 해당 병변으로 향하는 구역기관지 혹은 구역기관지 가지에서 기관지세척을 3회 시행하여(약 생리식염수 20 mL 주입) 회수된 검체 중 약 3 mL를 검체용해용액(specimen digester solution, guanidine isothiocyanate) 15 mL와 혼합하여 냉동보관용 튜브에 담아 -20°C 의 이동용 상자를 이용하여 실험실로 운반하였으며, 실험실에서 RNA를 추출할 때까지 -70°C 의 냉동고에 보관하였다. 나머지는 암세포 검사 및 미생물 검사에 이용하였다.

2) **RNA추출**: 검체에서 RNA추출은 마그네틱비드방법(magnetic bead method)을 이용한 mRNA extraction kit (iC&G Co., Daegu, Korea)을 이용하였으며, 제조사에서 지시한 분리방법에 따라 분리하였다. RNA의 순도와 질은 자외선분광광도법(ultraviolet spectrophotometry; DU 530, Beckman, CA, USA)을 이용하여 평가하였다.

3) **Nested Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-nested PCR)**: 추출된 RNA의 역전사 반응은 50 mM Tris-HCl, 75 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 250 μM CTP, 250 μM dTTP, 250 μM dGTP, RNase inhibitor (0.75 U/ μL), MMLV reverse transcriptase (5 U/ μL), 2.5 μM Oligo dT primer, 그리고 4 μg 의 denatured RNA가 포함된 20 μL 반응혼합물에 42°C 에서 60분 동안 진행되었고, 역전사효소의 활성을 제거하기 위하여 95°C 에서 5분 동안 배양시킨 후 사용할 때까지 -20°C 에서 보관하였다. 민감도를 높이기 위해 MAGE A1~A6를 동시에 확인할 수 있는 공통시발체를 이용하여 1차와 2차 중합연쇄반응을 증폭하였다. 첫 번째 역전사 중합연쇄반응은 828-852 bp의 뉴클레오티드를 발견할 수 있는 시발체 C1 (5'-CTGAAGGAGAAGATCTGCC-3'), C2(5'-CTCC-AGGTAGTTTTCTGCAC-3')을 이용하여 MAGE유전자의 발현율을 조사하는 것으로서 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 200 μM dATP, 200 μM CTP, 200 μM dTTP, 200 μM dGTP, 0.6 U TaqDNA polymerase, 0.5 μM sense primer C1, 0.5 μM anti-sense primer C2, 그리고 2 μL 의 역전사 반응산물이 포함된 20 μL 의 반응혼합물에서 시행하였다. 반응조건은 95°C 에서 30초 동안 변성(denaturation)시키고, annealing은 60°C 에서 45초 동안,

extension은 72°C에서 45초 동안 모두 30회 반복 수행하였다. 반응 전후로 94°C에서 2분 동안 pre-denaturation을 post-extension incubation은 72°C에서 10분간 하였다.

두 번째 역전사 중합연쇄반응은 첫 번째 연쇄반응산물 1 μL를 이용하였으며, 시발체와 주형(template)만 제외하고는 첫 번째 역전사 중합연쇄반응과 모두 동일하게 진행하였다. Sense primer로 C3 (5'-CTGAAGGAGAAGATCTGCCWGTG-3', W is A or T)를 antisense primer로 C4 (5'-CCAGCATTCTGCCTTTGTGA-3')를 이용하였다.

4) Percutaneous needle biopsy: PCNB는 흉부 전산화 단층촬영을 한 후 뼈, 혈관 그리고 기포를 피해 형광투시 방법(fluoroscopy-guided needle biopsy)을 이용해 최단 거리로 시행되었다. 환자는 병변에 따라 바로 눕거나 옆 드러 누운 자세를 취하였다. PCNB검사 전 모든 환자는 부분마취를 하였으며 22 G 흡인용 생검용 바늘(Westcott Biopsy Needle; Becton Dickinson & Co., Franklin Lake, NJ, USA)을 사용하였다. 2명의 숙련된 방사선학자가 조직 검사를 시행하였으며 얻은 조직은 동일한 병리학자에게 의뢰하였다.

5) 통계: SPSS version 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 통계학적 분석을 하였다. Chi-square test를 이용하여 일반적 암세포검사법과 MAGE 발현 정도를 비교하였으며, p값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 대상환자의 특성

대상환자 287명 중 폐암 189예(선암 111예, 편평상피세포암 47예, 소세포암 22예, 육종양암 2예, 대세포신경내분비암 1예, 점액표피양암종 1예, 방추형세포암 1예, 림프종 1예, 전이성 간암 1예, 분류되지 않는 폐암 2예)였다. 양성 폐질환은 89명(폐렴 29예, 만성 염증성질환 18예, 결핵종 17예, 폐결핵 12예, 육아종 5예, 아스퍼질러시스 2예, 과오종 2예, 콕시디오이테스 진균종 1예, 기타 3예)이었으며 이들을 대조군으로 하였다. 폐암환자의 평균나이는 66.5세(26~89세)였으며 남자 140명(74.1%), 여자 49명(25.9%)이었고, 양성 폐질환자의 평균나이는 63.1세(32~83세)로, 남자가 61명(68.5%), 여자가 28명(31.5%)이었다(Table 1).

Table 1. Demographics in cancer and benign lung disease

	Lung cancer (n=189)	Benign (n=89)
Age, yr	66.5 (26~89)	63.1 (32~83)
Gender		
Male	140	61
Female	49	28
Histopathology		
Adenocarcinoma	111	
Squamous cell carcinoma	47	
Small cell lung carcinoma	22	
Unclassified	2	
Others*	7	
Benign disease of lung		
Focal pneumonia [†]		29
Chronic inflammation		18
Tuberculoma		17
Tuberculosis		12
Granuloma		5
Aspergilloma		2
Hamartoma		2
Coccidioidomycosis		1
Others [†]		3

*Others: Metastatic hepatocarcinoma, spindle cell carcinoma, neuroendocrine carcinoma, sarcomatoid carcinoma, mucoepidermoid carcinoma, lymphoma. [†]Others: anthracosis, leiomyoma and pulmonary eosinophilia.

2. 폐암에서 MAGE유전자 발현과 암세포 검사 결과

189예의 폐암 중 93예에서 기관지세척액에서 MAGE가 발현되어 민감도는 49.2%였으며 암세포검사법은 17명이 양성으로 민감도는 9.0%였다. 특이도는 MAGE 유전자검사법과 암세포검사법에서 각각 87.6%와 100%였다. MAGE 유전자검사법의 양성예측도와 음성예측도는 각각 89.4%와 44.8%였으며, 암세포검사법은 100%와 34.1%였다(Table 2).

암세포검사법에서 음성이었던 172명 중 88명(51.2%)에서 MAGE검사법에서 양성으로 확인되었으며, MAGE검사

Table 2. Overall diagnostic value and comparison of the conventional cytology and MAGE RT-nested PCR

	Sensitivity*	Specificity	PPV	NPV
Cytology	9.0%	100%	100%	34.1%
MAGE	49.2%	87.6%	89.4%	44.8%

*p=0.011.

RT-nested PCR: reverse transcription-nested polymerase chain reaction; PPV: positive predicted value; NPV: negative predicted value.

Table 3. Expression rate of MAGE in bronchial washing according to the histological types in lung cancer

	Cytology (%)	MAGE (%)*
Adenocarcinoma (n=111)	10 (9.0)	49 (44.1)
Squamous cell carcinoma (n=47)	6 (12.8)	27 (57.4)
Small cell lung carcinoma (n=22)	1 (4.5)	13 (59.1)
Unclassified (n=2)	0 (0.0)	1 (50.0)
Others [†] (n=7)	0 (0.0)	3 (42.9)
Total (n=189)	17 (9.0)	93 (49.2)

*p>0.05 according to the histological types. [†]Others: Metastatic hepatocarcinoma, spindle cell carcinoma, neuroendocrine carcinoma, sarcomatoid carcinoma, mucoepidermoid carcinoma, lymphoma.

Table 4. Expression rate of MAGE in bronchial washing according to the tumor size in lung cancer

Tumor size (median)	Cytology (%)	MAGE (%)*
≤3 (2.25), cm (n=83)	3 (3.6)	40 (48.2)
>3 (4.55), cm (n=106)	14 (13.2)	53 (50.0)

*p>0.05.

법에서 음성이었던 환자 96명 중 12명(12.3%)이 암세포검사에서 양성이었다. 전체 189명의 폐암환자 중 MAGE 양성이거나 암세포검사법에서 양성인 환자는 105명으로 두 검사법을 병행할 경우 민감도는 55.6%로 향상되었다.

3. 조직형태에 따른 MAGE유전자 발현과 암세포 검사

폐암의 조직형태에 따른 MAGE 발현은 선암 44.1%, 편평상피세포암 57.4%, 소세포암 59.1%였으며 조직형태에 따른 MAGE유전자 발현의 차이는 없었다. 암세포검사법의 양성률은 선암 9.0%, 편평상피세포암 12.8%, 소세포암 4.5%로 암세포검사법의 양성률은 9.0% (17/189)였다 (Table 3).

4. 폐암의 크기와 위치에 따른 MAGE유전자 발현과 암세포 검사

원발성 폐암의 T1병기와 T2병기를 구분하는 30 mm를 기준으로 한 MAGE유전자의 발현은 30 mm 이하 병변 83예 중 40예에서 발현되어 양성률은 48.2%, 30 mm를 초과하는 병변은 106예 중 53예에서 발현되어 양성률은 50.0%로 크기에 따른 차이는 없었다(p>0.05, Table 4). 또한 임상적 병기에 따른 MAGE유전자 발현율의 차이는

Table 5. Expression rate of MAGE in bronchial washing according to the location in lung cancer

	MAGE (%)*
RUL (n=56)	27 (48.2)
RML (n=17)	5 (29.4)
RLL (n=42)	24 (57.1)
LUL (n=37)	18 (48.6)
LLL (n=37)	19 (51.4)

*p>0.05.

Table 6. Expression rate of MAGE in benign lung disease

Diagnosis	Number of patients	MAGE positive (%)
Focal pneumonia	29	4 (13.8)
Chronic inflammation	18	3 (16.7)
Tuberculoma	17	0
Tuberculosis	12	3 (25.0)
Granuloma	5	0
Aspergilloma	2	1 (50.0)
Hamartoma	2	0
Coccidioidomycosis	1	0
Others*	3	0
Total	89	11 (12.4)

*Others: anthracosis, leiomyoma and pulmonary eosinophilia.

없었으며(p>0.05), 폐암이 발생한 위치를 우상엽, 우중엽, 우하엽, 좌상엽, 좌하엽으로 나누었을 때 MAGE유전자의 발현은 각각 50%, 28%, 57%, 50%, 49%로 통계적으로 차이는 없었다(Table 5). 그러나 우중엽에 발생한 병변은 MAGE유전자의 발현이 다른 위치에 발생한 경우보다 낮았다.

5. 양성질환에서 MAGE유전자의 발현

89명의 양성질환자 중 11명(12.4%)에서 MAGE유전자가 발현되었으며 모두 남자였다. 이 중 5명은 흡연을 하지 않았으며 흡연자의 평균흡연량은 34갑년이었다. 폐렴이 4명(13.8%), 만성 염증성질환 3명(16.7%), 폐결핵 3명, 아스퍼질러시스진균증 1명이었다. 특히 결핵성 병변은 결핵종과 활동성 폐결핵으로 구분하여 확인하였는데 결핵종에서 MAGE유전자는 발현되지 않았으나, 활동성 폐결핵 12명 중 3명(25%)에서 확인되었다. 전체 결핵성 병 29명 중 3명에서 MAGE가 발현되어 결핵성 병변의 위양성률은 10.3%였다(Table 6). 결핵성 병변의 위양성에 대한 확인

을 위해 인형결핵균 4가지 균주에서 MAGE유전자의 발현을 확인하였는데 모두 발현되지 않았다(data not shown).

고 찰

본 연구는 실제 진료에서 기관지내시경으로 도달할 수 없는 병변을 PCNB검사 전 폐암에 대한 선별 검사로서 MAGE검사법의 유용성에 대한 보고이다. 기관지세척액을 이용한 MAGE검사법은 폐실질 병변에 대한 조직 검사에 널리 적용되는 PCNB보다 민감도는 낮았지만 PCNB법의 침습성과 시술에 따른 합병증을 고려한다면 폐실질에 발생한 폐암을 진단하기 위한 새로운 검사법으로서 가능성을 제시하고 있는데, 이는 폐암조직 및 PCNB로 얻은 검체를 대상으로 한 선행연구에 근거하고 있다^{6,8}.

MAGE유전자는 폐암을 비롯해 위암, 식도암, 유방암, 간세포암, 대장암, 난소암, 백혈병 등 다양한 종양에서 발현되며, DNA의 CpG promotor의 탈메틸화(demethylation)에 의해 유도되는 것으로 알려져 있다⁹. 그러나 대만과 고향을 제외한 정상세포는 CpG promotor가 계속 메틸화되어 있어 MAGE유전자는 활성화되지 않기 때문에 종양 특이 항원으로 알려져 있다⁹. 여러 암에서 DNA의 저메틸화(hypomethylation)는 암발생의 비교적 초기단계에서 일어나는 것으로 알려져 있는데^{10,11}, 특히 폐암의 경우 CpG promotor의 탈메틸화는 폐암조직뿐만 아니라 폐암 주위의 정상조직 및 담배를 많이 피운 사람의 기관지 상피조직 등에서도 확인되었다¹². 종양 특이 항원의 이러한 특성을 이용한다면 종양을 진단하거나 치료하는데 이용될 수 있을 것이다.

폐암조직에서 MAGE-A 유전자의 12개 아형 중 MAGE-A1 혹은 MAGE-A4의 발현은 30~40%로 보고되었고^{13,14}, 다른 연구에서 비소세포폐암의 MAGE-A1과 A3의 발현은 66%이며 편평상피암에서 특히 높은 것으로 보고되었다¹⁵. MAGE-A의 여러 아형은 소세포폐암에서도 발현되었는데¹⁶ 소세포폐암의 MAGE유전자 역시 세포독성 T-림프구(cytotoxic T lymphocyte)가 인지하는 종양 특이 항원이며 종양면역반응에 관여하는 것으로 밝혀졌다¹⁷. 이러한 연구를 토대로 MAGE-A의 각 아형을 동시에 검출할 수 있다면 MAGE의 발현율을 더 향상시킬 수 있을 것이라고 예측하게 되었으며, Park 등⁵은 MAGE유전자 중 A1-6 (MAGE A-1, -2, -3, -4a, -4b, -5a, -5b, -6)까지 동시에 검출할 수 있는 공통시발체(MAGE A1-6 common primer)를 개발하여 다양한 임상검체를 대상으로 그 유용성을 확

인하였다⁷. 폐암조직 혹은 PCNB로 얻은 검체에서 MAGE 공통시발체를 이용한 발현율은 70~80% 이상으로 보고되었는데^{18,19}, 이는 MAGE-A의 아형 중 MAGE-A3의 폐암조직 내 발현율보다 훨씬 높아 기관지세척액을 이용한 MAGE발현에 대한 기대를 갖게 하였다.

Kim 등¹⁹이 폐실질에 발생한 폐암을 대상으로 PCNB에 의한 조직학적 진단과 기관지세척액에서 MAGE 발현을 비교하여 두 검사법에서 민감도의 차이가 없음을 보고하였으며(73.1%, 67.9%), Kim 등²⁰과 Lee 등²¹은 폐실질에 발생한 병변을 대상으로 기관지세척액 내 MAGE 발현을 약 48%로 보고하였다. 그러나 이들 연구에 포함된 폐암환자는 40예를 넘지 않아 연구결과를 일반화하기에는 어려움이 있어, 저자들은 실제 임상현실에서 더 많은 검체를 대상으로 공통시발체를 이용한 MAGE유전자검사법의 유용성을 확인하였다. 본 연구는 189예의 폐암과 89예의 양성질환을 포함하고 있어 지금까지 공통시발체를 이용한 MAGE유전자연구로는 가장 많은 환자를 대상으로 하고 있다. 저자들의 연구에서 확인된 폐암환자의 기관지세척액 내 MAGE유전자 발현은 49.2%로 폐암조직에서 보고된 양성률보다는 낮으나, 본 연구와 유사한 방법으로 연구된 연구의 보고 48%와 거의 비슷하였다^{20,21}. 연구에 따라 기관지세척액에서 MAGE유전자의 발현을 약 68% 정도로 보고한 경우도 있지만¹⁹ 대상환자가 매우 적고 다른 연구에서 유사한 결과가 재현된 경우는 아직 없다.

조직학적 형태에 따른 MAGE유전자의 발현은 통계적 유의성은 없었지만 선암(44.1%)보다 편평상피암(57.4%)과 소세포암(59.1%)에서 발현율이 높은 경향이였다. 저자들은 수술로 절제한 암조직을 대상으로 한 이전 연구에서 선암의 발현은 69.2%였으나 편평상피암은 86.1%에서 발현되었으며¹⁸, PCNB로 얻은 폐암조직에서도 선암은 편평상피암과 비교할 때 MAGE유전자의 발현이 낮았다(80% vs. 100%)¹⁷. 최근 Lee 등²²이 폐암조직을 대상으로 한 연구에서 MAGE양성률 역시 69.9%로 편평상피암의 95.2%보다 낮았다. 이러한 연구결과는 선암에서 MAGE유전자의 발현이 낮은 것은 편평상피암이 선암에 비하여 비교적 중심기관지에서 발병하기 때문이 아니라 선암 자체의 MAGE유전자 발현이 낮을 것이라는 점을 제시하고 있다. 그러나 이들 선행연구는 연구대상이 작아 더 많은 환자를 대상으로 한 추가연구가 필요하다.

본 연구에서 MAGE 검사의 민감도는 TNM병기 분류에 의한 병기와 관계가 없었으며, 종양크기를 T1병기에 해당하는 30 mm 이하인 병변에서 48.2%로 30 mm 이상의

50%와 전혀 차이가 없었다. 이는 Kim 등¹⁹이 종양의 크기에 따라 MAGE의 발현에 차이가 없음을 보고한 결과와 유사하였으나 저자들의 연구가 상대적으로 발현율이 낮았다. 종양의 발생위치에 따른 발현율도 중요한데, 실제 우상엽은 종양을 포함하고 있는 구역기관지나 구역기관지 가치를 기관지내시경으로 정확하게 도달하기 어려운 경우가 많다. 그러나 우상엽에 발생한 폐암의 MAGE유전자의 발현은 우하엽 혹은 좌하엽에 발생한 경우와 비슷하여 폐암의 발생위치에 따른 MAGE 발현의 차이는 없었는데, 이는 폐암진단을 위한 선별검사법으로는 매우 중요한 점이다.

MAGE유전자는 종양 특이 유전자로 인정되지만 양성 폐질환과 정상조직에서 발현이 확인되어 위양성이 보고되었다. 연구에 따르면 폐실질에 발병한 폐암에서 기관지내시경을 이용하여 얻은 기관지세척액의 MAGE 민감도는 48%에서 68%였으나, 결핵 및 심한 염증성 질환에 있어서도 25%까지 위양성이 나타날 수 있어 해석에 주의해야 함이 제기되었으며^{19,20}, 결핵성 병변의 MAGE유전자 발현이 44%로 상대적으로 높아, 만성 염증반응에 의한 MAGE 유전자의 발현보다는 결핵 자체와 관련이 있을 가능성에 대해 추가분석의 필요성을 제기하기도 하였다²¹. 저자들의 연구는 양성 질환자 중 만성 염증을 비롯해서 결핵, 폐렴 등 다양한 질환이 포함되었으며, 위양성은 대부분 만성 염증이나 국소폐렴, 결핵성 병변이 대부분이었다. 특히, 활동성 결핵에서 위양성이 25%로 비교적 높아 폐결핵의 위양성이 결핵균 자체에 의한 것인지를 확인하기 위해 인형결핵균 4가지 균주를 대상으로 공통시발체를 이용하여 MAGE유전자의 발현을 확인하였는데 모두 발현되지 않았다. 이는 폐결핵에서 나타나는 위양성은 결핵균 자체보다는 결핵에 의한 주변조직의 염증성 변화로 MAGE가 발현될 가능성을 제시하고 있으며, 폐암을 수술한 경우 폐암주변의 정상조직에서 MAGE 발현이 8.9%에 이른다는 연구결과^{7,18}와 MAGE유전자는 상처가 치유되는 과정의 정상피부에서도 발현되는 것으로 알려져 있어 이 사실을 뒷받침하고 있다²³. 그러나 위양성에 대한 정확한 해석은 양성질환에서 MAGE가 발현되는 환자에 대해 장기간 추적하였을 때 폐암이 어느 정도 발병하는지 확인하여야만 가능할 것이다.

본 연구의 제한점은 수술로 절제된 조직에서 MAGE유전자 발현과 동일인의 기관지세척액에서 MAGE 발현을 비교 분석하지 못하여 MAGE유전자 민감도분석에는 한계가 있을 것으로 생각한다.

저자들의 연구결과를 요약하면 폐실질에 발병한 폐암의 기관지세척액에서 MAGE유전자의 발현율이 약 49%로 기존의 암세포검사법보다 훨씬 높으며 임상병기나 종양의 크기, 병소의 발생위치에 따른 차이는 없었다.

본 연구결과는 임상적으로 폐실질에 발병한 폐암을 진단하는데 보조적인 수단으로 이용할 수 있는데, 특히 폐실질 병변에 대하여 조직학적 검사의 시행 여부를 결정하는데 유용하게 적용할 수 있을 것이다. 앞으로 결절의 크기가 작은 폐암을 대상으로 한 연구와 위양성에 대한 장기적 전향적 연구로 MAGE유전자 검사법의 유용성을 확인해야 할 것이다.

감사의 글

This research was supported by a grant of Yeungnam University Medical Center (2004).

참 고 문 헌

1. Henschke CI, McCauley DI, Yankelevitz DF, Naidich DP, McGuinness G, Miettinen OS, et al. Early Lung Cancer Action Project: overall design and findings from baseline screening. *Lancet* 1999;354:99-105.
2. Manhire A, Charig M, Clelland C, Gleeson F, Miller R, Moss H, et al. Guidelines for radiologically guided lung biopsy. *Thorax* 2003;58:920-36.
3. Yamagami T, Iida S, Kato T, Tanaka O, Nishimura T. Combining fine-needle aspiration and core biopsy under CT fluoroscopy guidance: a better way to treat patients with lung nodules? *AJR Am J Roentgenol* 2003;180:811-5.
4. Heck SL, Blom P, Berstad A. Accuracy and complications in computed tomography fluoroscopy-guided needle biopsies of lung masses. *Eur Radiol* 2006;16:1387-92.
5. 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.
6. Jeon CH, Lee SC, Hyun DS, Hong SI, Hong YJ, Chang YH, et al. Evaluation of sensitivity and specificity of MAGE A1-6 RT-nested PCR as a cancer detection method. *Korean J Lab Med* 2003;23:357-62.
7. 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.

8. Kim H, Kim SJ, Lee SH, Seong HS, Lee KO, Jeon CH, et al. Usefulness of melanoma antigen (MAGE) gene analysis in tissue samples from percutaneous needle aspiration biopsy of suspected lung cancer lesions. *Lung Cancer* 2010;69:284-8.
9. 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 USA* 1996;93:7149-53.
10. Narayan A, Ji W, Zhang XY, Marrogi A, Graff JR, Baylin SB, et al. Hypomethylation of pericentromeric DNA in breast adenocarcinomas. *Int J Cancer* 1998;77:833-8.
11. Lin CH, Hsieh SY, Sheen IS, Lee WC, Chen TC, Shyu WC, et al. Genome-wide hypomethylation in hepatocellular carcinogenesis. *Cancer Res* 2001;61:4238-43.
12. 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.
13. Weynants P, Lethé B, Brasseur F, Marchand M, Boon T. Expression of mage genes by non-small-cell lung carcinomas. *Int J Cancer* 1994;56:826-9.
14. Lee SJ, Yun MJ, Lee ST, Oh HJ, Song SH, Sohn I, et al. The clinical implication of MAGE gene detection in bronchial washing fluid in routine practice. *Tuberc Respir Dis* 2010;69:442-9.
15. 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.
16. Tajima K, Obata Y, Tamaki H, Yoshida M, Chen YT, Scanlan MJ, et al. Expression of cancer/testis (CT) antigens in lung cancer. *Lung Cancer* 2003;42:23-33.
17. 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.
18. 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. Kim HR, Kim TH, Chung JH, Yoon HI, Lee CT, Kang CH, et al. The detection of peripheral lung cancer by MAGE A1-6 RT-nested PCR in bronchial washing specimens. *Lung Cancer* 2009;65:166-9.
20. Kim S, Kim H, Kwon OJ, Chung MP, Suh GY, Koh WJ, et al. The utility of MAGE gene detection in bronchial washing fluid for patients with peripheral NSCLC. *Tuberc Respir Dis* 2008;64:15-21.
21. Lee SJ, Yun MJ, Lee ST, Oh HJ, Song SH, Sohn I, et al. The clinical implication of MAGE gene detection in bronchial washing fluid in routine practice. *Tuberc Respir Dis* 2010;69:442-9.
22. Lee YJ, Lee JH, Lee JC, Lee KH. Expression of MAGE A 1-6 and SSX 1-9 genes in the sputum and cancer tissue of the lung cancer patients. *Tuberc Respir Dis* 2011;70:315-22.
23. Becker JC, Gillitzer R, Bröcker 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.