

미확정 편평상피세포와 인체 유두종바이러스와의 비교

Comparison of ASCUS and Human Papilloma Virus

박미순*, 장병수**

한서대학교 보건의료학과*, 한서대학교 피부미용학과**

Mi-Soon Park(kimpark42000@naver.com)*, Byoung-Soo Chang(bschang@hanseo.ac.kr)**

요약

세포선별검사서 ASCUS로 진단된 검체 중 F-UP이 진행되지 않은 검체 179건을 대상으로 HPV high risk factor, low risk factor를 확인하기 위해서 Hybrid Capture II Test를 하였다. 시험 결과 high risk factor 양성 및 low risk factor 양성은 전체 179 cases 중 26 cases로 나타났으며, 전체 검체 중 약 15%에 해당되었다. 또한 전체 15%의 양성검체 중 high risk factor 양성은 96%에 해당되는 것을 확인하였다. 결론적으로 효과적인 검진 체계를 갖춘 나라에서도 자궁경부암의 예방이 완전히 해결되지 않고 있는 문제점이 있는 여건을 고려해 볼 때 추적 관찰이 용이하지 않은 경우를 대비해 자궁경부암으로 진행될 수 있는 precancerous lesion의 원인 인자인 HPV 존재 유무를 세포선별검사와 HPV Hybrid Capture II Test를 동시에 시행하는 것이 효과적이라고 사료된다.

■ 중심어 : | 미확정편평상피세포 | 인체 유두종바이러스 | HC II Test | Pap Smear |

Abstract

Among 179 specimen diagnosed with ASCUS but did not go through biopsy or other tests, 26 cases (14.52%) showed positivity in HPV Hybrid Capture II Test.

There were 25 cases of HPV high risk factor(+), marking 13.96%, and 3 cases of low risk factor(+) at 1.67%. According to cytology manifestation, patients with over LSIL can increase their complete recovery rate with continuous tests, but most patients diagnosed ASCUS do not go through any tests at all. It is considered that in order to prevent and start early treatment on cervical cancer, the HPV Hybrid Capture II Test must be enforced to patients diagnosed with ASCUS.

Negative patients should go through routine screening, and positive patients should receive treatment after colposcopy.

■ keyword : | ASCUS | HC II Test | HPV | Pap Smear |

I. 서론

1937년 George Papanicolaou가 자궁경부암 진단에

세포학적 검사법을 도입한 이래 세포선별검사법은 자궁경부암의 조기진단을 위해 매우 효과적인 방법으로 인정받아 왔다. 세포학적 선별검사로 병변이 명확한 경

* 이 논문은 2012년도 한서대학교 교비 학술연구 지원사업에 의하여 연구되었음.

* 본 논문은 한국콘텐츠학회 2013 춘계 종합학술대회 우수논문입니다.

접수일자 : 2013년 07월 15일

심사완료일 : 2013년 07월 31일

수정일자 : 2013년 07월 25일

교신저자 : 장병수, e-mail : bschang@hanseo.ac.kr

우에는 질경검사(colposcopy), 생검(biopsy), 인체 유두종 바이러스검사(human papilloma virus: HPV test) 등을 시행하여 추적 관찰이 용이하게 진행되어 오고 있다[1][2].

미확정 비정형 편평세포(atypical squamous cells of undetermined significance : ASCUS)는 편평상피내 병변(squamous intraepithelial lesion : SIL)의 진단 기준에는 미치지 못하는 경미한 변화이면서 양성 세포성 변화(benign cellular change)의 기준에 비해서는 세포학적 변화정도가 심한 세포를 의미한다. 이런 세포학적 비정형(abnormality)은 염증성 반응세포 변화보다 뚜렷하게 나타나지만 이것은 SIL부위의 명확한 진단을 내리는데 불충분하다[3].

따라서 이런 병소 부위를 ASCUS로 정의하고 편평상피내 병소의 세포학적 변화가 일어나는 것으로 고도의 편평상피내병소(high grade squamous intraepithelial lesion: HSIL)로의 진행을 배제할 수 없다[4].

ASCUS로 진단된 여성은 ASCUS와 LSIL의 선별검사를 6개월 간격으로 2회에 걸쳐 세포학적 검사를 실시해서 HPV의 감염 유무를 확인하고 1회의 질경검사를 통하여 안전하고 효율적으로 치료할 수 있다.

고위험 인체 유두종바이러스(high risk human papilloma virus: hr-HPV) 감염은 결과 자궁경부암으로 발전된다[5].

질 경부 암 발병 유무를 확인하기 위해서 hr-HPV 추적에 대한 분자생물학적 기법을 많이 사용하고 있다. Hybrid Capture II (HC II) 시험은 FDA에서 최초로 공식 승인한 시험법으로서 현재 임상에서 hr-HPV 추적을 위해 사용되는 방법 중에서 가장 많이 사용하는 방법이다.

HPV의 선별 분석법(screening assay)인 HC II 검사는 경부 찰과물로부터 15종류의 고위험군 종양유발형 인체 유두종바이러스를 동정하는 데 사용되고 있다[6].

이에 본 연구는 자궁경부암 조기진단을 위한 액상세포 선별검사에서 ASCUS로 진단된 검체 중 세포학적 HPV 소견은 관찰되지 않았으나, F-UP(follow-up)이 이루어지지 않은 검체를 대상으로 최근 precancerous

factor로 알려진 HPV high risk factor와 low risk factor의 유무를 HPV Hybrid Capture II test로 분석하였다.

II. 연구내용 및 방법

1. 실험 재료

연구재료는 자궁경부암의 조기진단을 위해 H임상검사센터에 액상세포검사법으로 의뢰된 자궁 세포진 선별검사 중 ASCUS로 진단된 환자의 검체(생검 또는 HPV test가 의뢰되지 않은 검체) 179 cases를 실험 대상으로 선정하였다.

2. 검경용 슬라이드 제작

액상세포검사는 시료 채취용 Roversbrush™로 자궁 내, 외 경관 및 질부 상피세포를 시계방향으로 5회전하여 채취한 후 세포변성을 방지하기 위해 95% ethanol 이 담긴 고정용기에 보관하였다. 검체 수집 후 검경에 방해가 되는 이물질(mucous와 RBC)을 제거한 세포를 slide glass에 one layer로 도말하여 Papanicolaou stain 을 실시한 다음 광학현미경(BX51, Olympus, Japan)으로 검경하였다. 세포선별검사의 보고체계는 베데스다 분류(The Bethesda System : TBS)체계를 사용하였다.

3. HPV DNA Hybrid Capture II Test

Hybrid Capture II Test는 자궁경부에서 채취한 세포 또는 조직 검체에서 인체유두종 바이러스(HPV)의 유전자형을 판별하는 정성 검사이다. 고위험군으로 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68, 69 type 이 있으며, 저위험군으로 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44 type 이 존재한다.

자궁경부 검체 내에 존재하는 HPV DNA를 화학발광법을 이용하여 특이적인 항체가 피복되어 있는 96 microplate well 상에서 Denaturation, Hybridization, Capture, Signal amplification, Detection의 과정을 통해 정성적으로 검사하였다. 빛의 양은 설정된 cut off 값과 비교하여 cut off 이상의 값이 나올 경우 HPV DNA가

존재함을 확인하였다. Cut off는 1pg/ml (Positive Calibrator의 평균값)을 의미하며 단위는 RLU를 사용하였다. 여기서 HPV Negative의 결과 값을 Cut off(1pg/ml)보다 낮은 경우로 Positive의 결과 값을 Cut off(1pg/ml)보다 높은 경우를 음성(negative)으로 해석하였다.

4. Papanicolaou stain method

세포진단에 사용되는 일반염색으로 퇴행성 염색방법을 사용하였으며, Harris' hematoxylin으로 핵 염색을 한 다음, 0.5% HCl로 과염색된 핵을 탈색하였다. 이어서 Orange G-6와 E-A 36을 사용하여 세포질을 염색한 후 세포의 오염 및 보존을 위해 cover glass를 사용해 봉입하였다.

III. 결과 및 고찰

ASCUS의 임상적 중요성은 아주 다양하다. ASCUS로 판정된 환자 검체의 F-UP을 통하여 25-55%에서 바이러스에 의한 세포의 변화 또는 이형성증(dysplasia)으로 진단되었고, 5-20%가 HSIL로 보고되었다[7-9].

본 연구에서 ASCUS로 진단된 179cases의 검체중 HPV HC II Test 를 high risk factor와 low risk factor로 각각 나누어 검사를 실시한 결과 HPV high risk factor(+) 양성인 검체는 전체 179cases 중 25cases 이었다. 그중 HPV high risk factor(+) 양성이고, low risk factor도 동시에 (+) 인 검체는 2cases 이었다[표 1].

HPV high risk factor(+) 양성이나, low risk factor(-)인 검체는 23cases 이었으며 high risk factor만 양성인 검체는 25cases 이었다. 또한 high risk factor(-) 음성이나, low risk factor(+) 인 검체는 1case 이었고, HPV high risk factor(-) 음성이고, low risk factor도 동시에 (-) 인 검체는 151cases 이었다[표 1].

이와 같이 ASCUS로 진단된 179cases의 검체 중 HPV high risk factor와 low risk factor 양성은 26cases 이었으며, 전체 검체 중 약 15%에 해당되었다. 또한 전체 15%의 양성 검체 중 high risk factor 양성은 96%에

해당됨을 확인하였다

Tewari & Chaudhary[4]의 보고에 의하면 604검체의 도말표본 관찰에서 24검체가 ASCUS로 판정되었고 이들 24검체를 4-6개월 간격으로 Pap 도말검사 및 추적 검사에서 73%는 ASCUS가 나타나지 않았다. 따라서 정확한 진단을 위해서 질경검사와 생검 등 F-UP이 필요하다고 언급하였다.

자궁경부 세포진 검사에서 ASCUS로 나타난 경우에 더욱 진행된 병변을 갖고 있거나 추후 상피내암 또는 자궁경부암으로 진행될 가능성이 있다[10].

본 연구의 26cases에 대한 HPV DNA HC II Test 양성 판정 결과에서 high risk factor(+) 양성인 low risk factor(+) 양성보다 90% 이상을 차지하고 있는 것은 암의 전구병변(precancerous lesion)으로 진행될 수 있음을 의미한다[그림 1].

본 연구의 건강한 여성 자궁 경부상피 도말 표본에서 표제세포의 핵은 윤곽이 뚜렷하고 농축되어 있으며 중간세포의 핵은 미세한 염색질을 가지고 있고 핵막은 명확하게 관찰되었다[그림 2].

일반적으로 ASCUS 진단의 세포학적 판정근거는 중간세포의 핵이 2.5-3배 커지는 핵의 종대와 핵과 세포질 비율이 약간 증가한다. 또한, 핵의 크기와 윤곽의 변화 및 염색질의 과염색성(hyperchromasia)이 나타난다[4].

본 연구에서 ASCUS로 진단된 검체의 도말표본은 Tewari & Chaudhary[4]가 보고한 바와 같이 핵은 종대되어 있었고 핵막의 윤곽이 뚜렷하지 않았으며 이질 염색질이 산재되어 있었다. 또한, 핵과 세포질의 비율은 정상세포보다 높은 것으로 관찰되었다[그림 3].

Pap 도말검사와 HPV test 상관관계에서 단독으로 Pap 도말검사만을 실시했을 때 민감도는 77%이고, Pap 도말검사와 HPV test를 함께 실시하였을 때 민감도는 99%라는 보고가 있다[11].

자궁경부암은 여성암 사망률의 두 번째를 차지하고 있으며 암을 일으키는 가장 큰 위험인자는 생식기에 HPV 감염에 의해서 발생된다[5][12].

본 연구에서 HPV에 감염된 검체의 도말 표본을 관찰한 결과 상피세포에는 뚜렷한 세포학적 변화가 나타났다. 세포질의 착각화(parakeratosis)와 경도의 핵 이상

(dyskeratosis), 핵의 종대, 다핵화 및 핵 주위 세포질에 공동이 관찰되었다[그림 4].

HPV low risk factor 양성은 암으로 발전할 수 있는 암의 전구병변이다[13]. 본 연구 결과 ASCUS로 진단되고, HPV (+) 양성인 환자의 90% 이상이 HPV high risk factor (+) 양성인 결과를 나타냈다. ASCUS로 진단된 검체에서도 고위험군 인체유두종 바이러스가 검출되었다. 이는 적극적인 방법으로 백신접종이 용이하지 않은 환자를 위해서도 세포선별검사와 함께 HPV Test를 함께 실시하는 방법을 적극 추천되어야 함을 의미한다. 2006년 HPV 백신이 허가되면서 HPV 백신을 국가 예방접종 프로그램으로 시행하는 나라가 늘고 있다[14].

ACIP(Advisory Committee on Immunization Practices)와 ACS(American Cancer Society)의 지침 모두 11-12세의 접종시기를 추천하고 있으며 9세부터 접종을 시작할 수 있다고 권고하였다. ACIP와 ACS의 지침에서는 9세 이하나 26세 이상의 여성 및 남성에 대한 투여는 권고되지 않는다.

우리나라 권고안에서도 Gardasil[®]인 경우에는 9-26세의 여성, 9-15세 남성, Cervarix[®]인 경우에는 10-25세의 여성으로 권장하고 있다.

결론적으로 자궁경부암을 예방하기 위한 방법으로 양성 진단을 받은 여성에서 Pap smear와 함께 인체 유두종 바이러스(Human Papilloma Virus, HPV) 감염 유무를 동시에 실시하며 성접촉 이전의 청소년에게 적극적인 방법으로 백신의 예방접종을 필수 접종으로 실시하게 된다면 전 세계적으로 두 번째로 많이 호발되는 자궁경부암을 줄이는데 적극적인 방법이 될 것으로 사료된다.

표 1. ASCUS 검체의 HPV high risk, low risk factor 양성율

	HIGH(+)	HIGH(-)
LOW(+)	2	1
LOW(-)	23	151
TOTAL	25	152

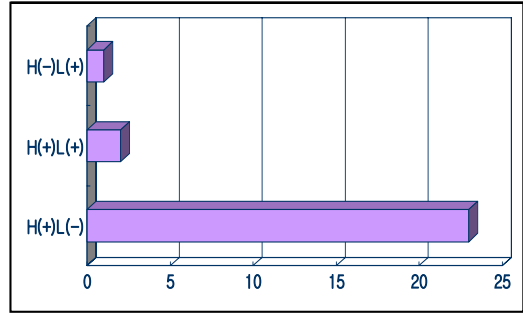


그림 1. HPV high risk(+), low risk factor(+) cases
X축: HPV HC II test 양성 환자 수
Y축: HPV infecton High risk, Low rik factor의 종류

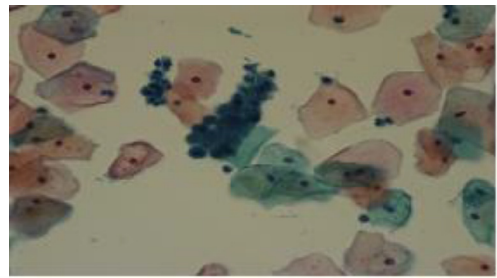


그림 2. 자궁 경부상피의 표재세포와 중간세포의 정상 도말 표본

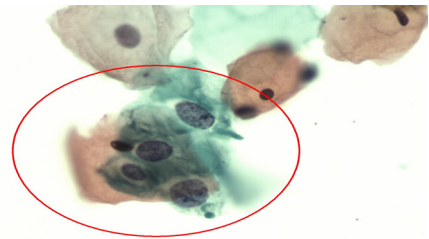


그림 3. ASCUS 로 진단된 검체의 Pap. 도말 표본
원: 중간세포 핵의 종대와 이질염색질이 관찰

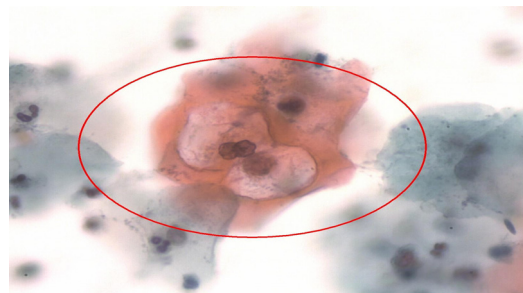


그림 4. HPV에 감염된 자궁경부 상피 도말 표본. 세포질의 착각화와 핵의 다핵화 및 핵주위 공동이 관찰

참고 문헌

- [1] C. S. Herrington, M. F. Evans, W. Gray, and J. O. D. McGee, "Morphological correlation of human papilloma virus infection of matched cervical smears and bioscopes from patients with persistent mild cervical cytological abnormalities," *Human Pathol*, Vol.26, pp.951-955, 1995.
- [2] A. Schneider, "Cervical and vaginal HPV infections," *Clin Dermatol*, Vol.15, pp.389-398, 1997.
- [3] R. Kurman, and D. Solomon, "*The Bethesda system for reporting cervical/vaginal cytologic diagnosis: definitions, criteria and explanatory notes for terminology and specimen adequacy*," New York, Springer Verlag, pp.148-156, 1994.
- [4] L. C. R. Tewari, and C. A. Chaudhary, "Atypical squamous cells of undetermined significance, a follow up study," *MJAFI*, Vol.66, pp.225-227, 2010.
- [5] F. X. Bosch, M. M. Manos, and N. Munoz, "Prevalence of human papilloma virus in cervical cancer: a worldwide perspective," *J Natl Cancer Inst*, Vol.87, pp.796-802, 1995.
- [6] M. del Pino, L. Rodriguez-Carunchio, I. Alonso, A. Torne, A. Rodriguez, P. Fuste, P. Castillo, N. Nonell, N. Abu-Lhiga, and J. Ordi, "Clinical, colposcopic and pathological characteristics of cervical and vaginal high-grade negative for HPV by Hybrid Capture 2," *Gynecol Oncol*, Vol.122, pp.515-520, 2011.
- [7] M. L. Williams, D. L. Rimm, M. A. Pedigo, and W. J. Frable, "Atypical squamous cells of undetermined significance: correlative histologic and follow-up studies from a academic medical center," *Diagn Cytopathol*, Vol.16, pp.1-7, 1997.
- [8] K. W. Alanen, L. M. Elit, P. A. Molinaro, and C. M. McLachlin, "Assesment of cytologic follow-up as the recommended management for patients with atypical squamous cells of undetermined significance or low grade squamous intraepithelial lesion," *Cancer*, Vol.84, pp.5-10, 1988.
- [9] K. A. Dvorak, M. Finemore, and J. A. Mksen, "Histology correlation with atypical squamous cells of undetermined significance(ASCUS) or low grade squamous intraepithelial lesion(LSIL) cytology diagnosis: an argument to ensure ASCUS follow-up that is as aggressive as that for LSIL," *Diagn Cytopathol*, Vol.21, pp.292-295, 1999.
- [10] I. Nindil, A. Lorincz, I. Mielzynska, U. Petry, S. Baur, R. Kirchmayr, W. Michels, and A. Schneider, "Human papilloma virus detection in cervical intraneoplasia by the second-generation hybrid capture microplate test, comparing two different cervical specimen collection methods," *Clin Diagn Virol*, Vol.10, pp.49-56, 1998.
- [11] T. C. Wright, X. W. Sun, and J. Koulos, "Comparision of management algorithms for the evaluation of women with low-grade cytologic abnormalities," *Obstet Gynecol*, Vol.85, pp.202-210, 1995.
- [12] N. Munoz, F. X. Bosch, S. de Sanjose, R. Herrero, X. Castellsague, K. Shah, and P. J. Snijders, "Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer," *N Engl J Med*, Vol.348, pp.518-527, 2003.
- [13] C. Perrons, R. Jelley, B. Klete, W. Quint, and N. Brink, "Detection of persistent high risk human papilloma virus injections with hybrid capture II and SPF10/LiPA," *J Clin Virol*, Vol.32, pp.278-285, 2005.
- [14] World Health Organization, "WHO position on HPV vaccines," *Vaccine*, Vol.27, pp.7236-7237, 2009.

저 자 소 개

박 미 순(Mi-Soon Park)

정회원



- 1994년 2월 : 동남보건대학 임상 병리학과 졸업
- 2002년 3월 : 국제세포병리사 자격취득(#9169)
- 2007년 8월 : 아주대학교 대학원 화학생명공학과 생명공학전공 (공학석사)
- 2012년 3월 ~ 현재 : 한서대학교 보건의료학과 보건 의료학 전공 박사과정
- 2012년 11월 ~ 현재 : 한국임상 의학연구소 병리과 <관심분야> : 진단세포학(Diagnostic cytology), 조직학(Histology), 병리학(Pathology)

장 병 수(Byung-Soo Chang)

정회원



- 1984년 2월 : 단국대학교 생물학과 졸업(이학사)
- 1986년 2월 : 단국대학교 대학원 생물학과 졸업 동물학 전공(이학 석사)
- 1992년 2월 : 단국대학교 대학원 생물학과 졸업 조직학 전공(이학 박사)
- 1993년 3월 ~ 2004년 2월 : 동남보건대학교 임상병리과 교수
- 2004년 3월 ~ 현재 : 한서대학교 보건학부 피부미용학과 교수
- <관심분야> : 모발 및 피부구조분(Micro-analysis of hair and skin), 화장품 성분분석, 조직학(Histology), 병리학(Pathology)