투고일 : 2011. 3. 11 심사일 : 2011. 3. 14 게재확정일 : 2011. 3. 17

구강암의 간편 진단 기법

서울대학교치과병원 구강암센터 / 구강악안면외과

방 강 미, 김 성 민, 명 훈, 김 명 진, 이 종 호

ABSTRACT

Diagnostic aids for the detection of oral cancer

Oral Cancer Center, Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Seoul National University Dental Hospital

Kang-Mi Bang, Soung-Min Kim, Hoon Myoung, Myung-Jin Kim, Jong-Ho Lee

Historically, the screening of patients for signs of oral cancer and precancerous lesions has relied upon the conventional oral examination. A variety of commercial diagnostic aids and adjunctive techniques are developed to potentially assist in the screening of healthy patients for evidence of occult cancerous change. This parper is reviewing the literature associated with current oral cancer screening aids such as spectroscopy, chemoiluminescence, exfoliative cytopathology, vital staining and saliva as a diagnostic tool. Despite the increased public awareness of oral cancer, no technique or technology to date has provided definitive evidence to suggest that it improves the sensitivity or specificity of oral cancer screening beyond clinical oral examination alone.

Key words : Oral cancer; Precancerous lesion; Screening; Diagnosis

Ⅰ. 서론

구강암은 8번째로 호발하는 악성 종양으로, 남성에서는 모든 악성 종양 중 4.5%를, 여성에서는 3.5%를 차지한다[1]. 그중에서 구강편평상피세포암(oral squamous cell carcinoma; OSCC)은 전체 구강암 중 90% 정도를 차지하는데, 치료방법이 발전했음에도 20여년간 이환된 환자의 5년 생존률은 50% 수준에서 별다른 진전을 보이지 못하고 있다[2]. 조기 발견된 구강편평상피세포암 환자의 생존률은 80%에 달하고 기능 유지 등의 예후가 좋기 때문에 구강암의 조기 발견에 대한 필요성이 대두되고 있다. 지금까지 구강암 및 그 전암병소를 조기에 발견할 수 있는 선별검사(screening test)는 대부분 시진이나 촉진에 의존해 왔다. 그러나 이미 초기 구강암이 조직병리학적으로 확진된 병소 중 25% 가량은 맹검 하의 시진 검사상 정상 점막으로 진단되었다는 사실과, 구강암으로 진단받은 환자의 1/3이 3년 이내에 시진에 의한 구강암 선별검사를 했었는데도 불구하고 이를 발견해내지 못했다는 사실로 미루어, 일반적인 시진/촉진은 구강암 및 구

■ Acknowledgment

This study was supported by a Grant of the Korea Healthcare Technology R&D Project, Ministry for Health, Welfare & Family Affairs, Republic of Korea. (A101578)

강내 전암병소의 선별검사 방법으로써 매우 제한적인 능력을 갖는다고 결론 내릴 수 있다[3]. 이에 따라 임상적이고 분자적 수준에서 구강암을 조기에 발견할 수 있는 진단 방법을 개발하기 위한 연구들이 행해지고 있다. 구강암 진단의 표준은 조직 생검을 하여 병리학적인 검사를 하는 것이지만, 이는 훈련된 의료진이 필요하며 침습적이고 통증이 있으며, 비용이 들고 시간이 소요되기에 자궁경부암에서 사용되는 Papanicolaou smear(Pap smear)와 같은 조직생검을 대체 할 수 있는 검사들에 대한 연구가 진행되고 있다. 임상적으로 구강암의 조기 발견을 위해 개발된 것에는 toluidine blue염색법, Oral CDx brush biopsy kit, 타액을 이용한 진단법, Velscope®, ViziLite®같은 image device가 있다. 현재까지, 위의 방법들이 조직검사에 비해 우월하다는 결과를 보여주고 있지는 않지만[4], 구강암의 간편 진단 방법을 위해 문헌 조사와 함께 저자가 시행하고 있는 VELscope 및 Vizilite를 이용한 검사에 대해 소개하겠다.

Ⅱ. 구강암의 간편 진단 방법들

Image device - Spectroscopy: Velscope (LED Dental Inc, Canada; 수입원 Osstem)

Visualization 보조기구를 이용해 구강내를 시진하는 방법들이 있으며, 이들은 구강 점막이 비정상적인 대사과정이나 구조적 변화를 겪으면 특수한 빛이나 에너지를 접했을 때, 정상조직과는 다른 흡수 혹은 반사 패턴을 보인다는 것을 이용하여 제작되었다(Fig. 1).

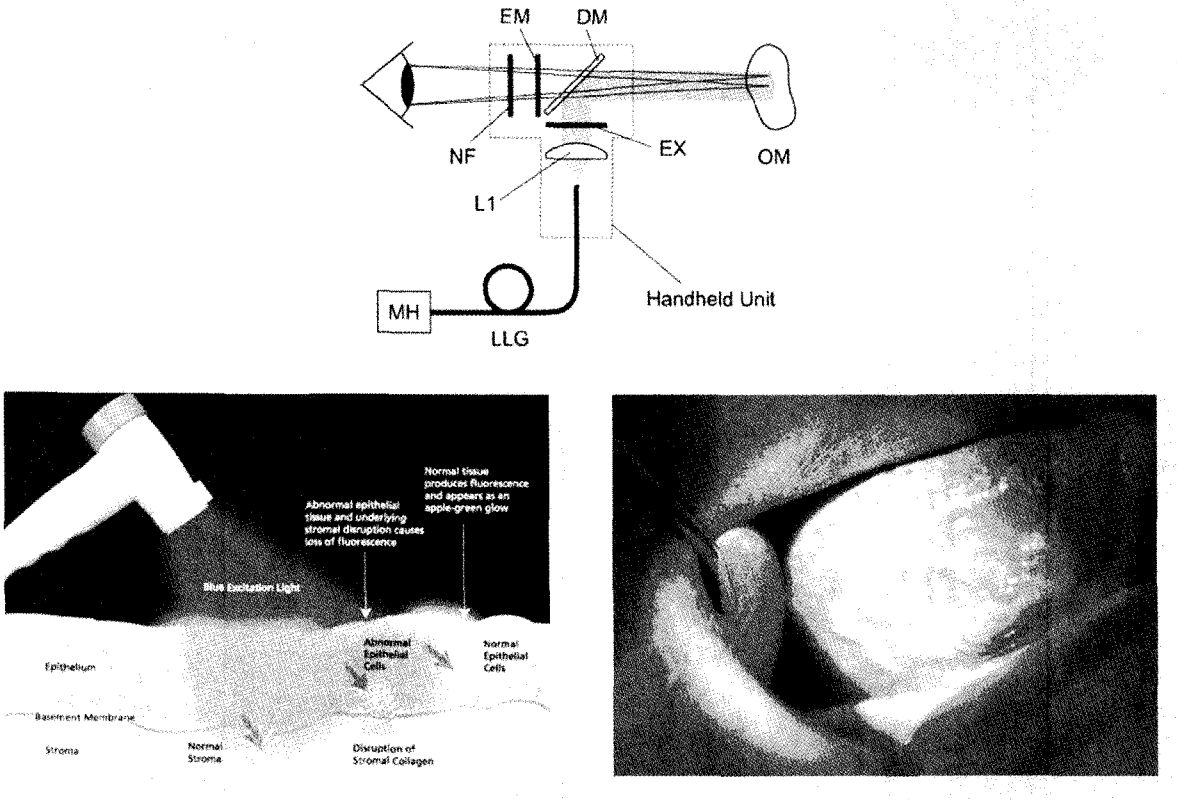

Fig. 1. Velscope의 원리

Velscope®는 특정광선에 대한 점막조직의 자가형광(autofluorescnece) 현상을 이용한 것으로 종양 및 이형성된 조직의 자가형광변화를 시각화하여 보여주는 방법이다. 점막조직은 조직내의 형광물질에 의해 빛을 반사하거나 흡수하는 경향을 가지고 있으며, 구강 조직의 형광성은 가변적이고, 조직내의 구조적 변

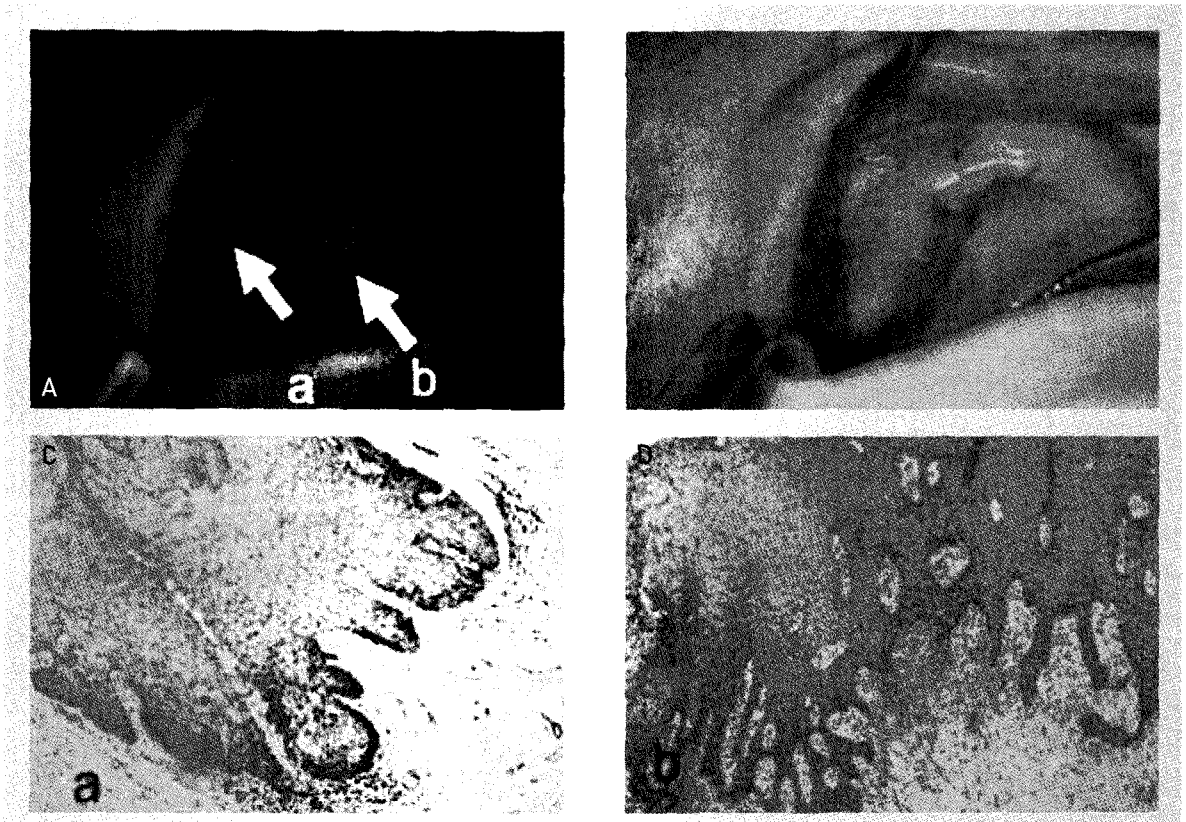

Fig. 2. A) 편평상피세포암 환자의 Velscope image B) 구강내 임상사진. 구강 점막의 홍반 및 궤양을 관찰할 수 있음 C) a 부위 조직생검 후의 현미경 사진. 편평상피세포암으로 확진됨 D) b 부위 조직생검 후의 현미경 사진. 상피이형성증으로 확진됨 (C, D: H&E staining, x100)

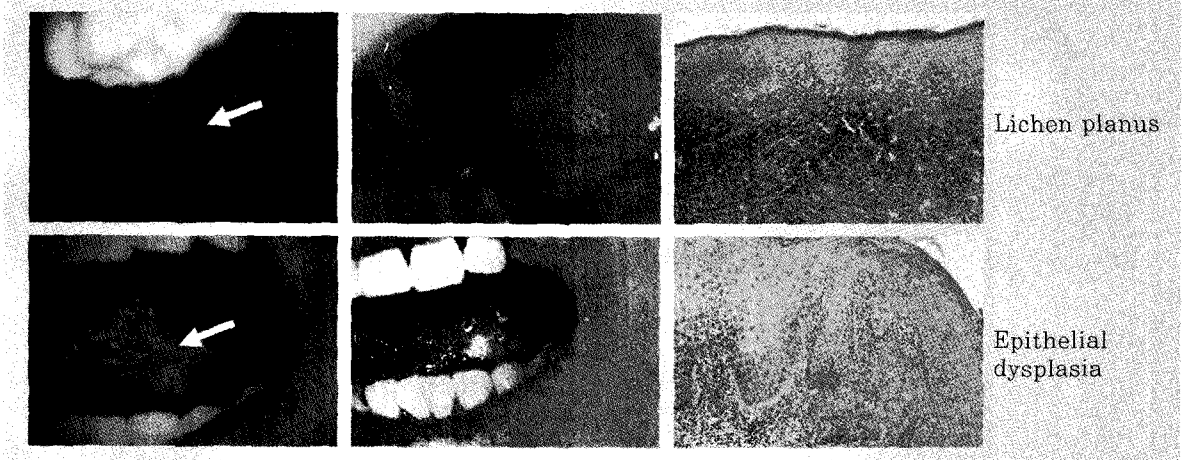

Fig. 3. Lichen planus와 leukoplakia의 Velscope 및 조직학적 사진

화 (hyperkeratosis, hyperchromatin, cellular/nuclear pleomorphism의 증가), 대사활성도 (flavin adenine dinucleotide [FAD]와 nicotinamide adenine dinucleotide [NADH]의 농도), subepithelial stroma (콜라겐 기질 조성 등), 헤모글로빈의 존재여부, 혈관의 확장, 염증에 의해 영향을 받는다. 이러한 가변성의 기전은 아직 밝혀지지는 않았지만, 청색광(400~460 namometer)에 노출되었을 때, 정상 구강 점막조직은 Velscope®의 handpiece로 보았을 때 녹색의 자가형광을 방출하나, 종양조직으로 변화하고 있는 세포들은 형광성을 잃어 정상조직과 감별될 수 있다(Fig. 2, 3). 지금까지의 Velscope®의 specificity와 sensitivity에 관한 보고들은 주로 case report였기에, 다양한 환자군에서 진단의 효율성에 대한 광범위한 임상연구가 필요하다. 이렇게 빛의 파장을 이용하는 방법은 낮은 signal을 보이는 것과 noise와의 감별, signal의 source가 무엇인지 명확히 하기의 어려움, 데이터의 정량화에 관한 문제, 구강은 다양한 조직으로 구성되어 있기에, 확진을 위한 기준 설정 등의 풀어야 할 과제가 남아 있다.

Chemoiluminescence: ViziLite

ViziLite®(ZilaPharmaceuticals, Phoenix, AZ, USA)는 화학발광 (chemoilu minescence)의 원리를 이용하여 아세틱 엑시드 (초산)으로 전처리한 구강점막을 조명하는 진단기구이다. ViziLite®의 capsule은 아스피린 혹은 아세틸살리실산 (acetyl salicylic acid)이 함유된 탄성의 외측 플라스틱 피막과 과산화수소 (hydrogen peroxide)가 들어있는 내측 유리병으로 이루어져 있으며, ViziLite®의 capsule이 활성화되면, 430~580nm 사이의 파장을 갖는 청백색의 빛이 생성된다. 1%의 아세트산으로 1분간 전처리한 구강 점막은 과각화증 (hyperkeratinization), 과이상각화증(hyper parakeratinization), 만성염증 침윤, 활발한 증식에 의해 세포의 핵/세포질비(nuclear-cyto plasmic ratio)가 증가한 경우에 화학 발광 검사 양성 반응을 나타낸다. 양성반응은 ViziLite®를 가했을 때 점막이 밝은 청색조를 보이는 경우이며, 음성반응은 점막이 어두운 청색을 보이는 경우이다. 화학 발광 검사를 하기 전에 아세트산을 가하는 이유는 정상 점막과 이상 점막의 대조도를 증가시키기 위함이다. 세포의 이형성도가 증가하면 세포핵의 크기가 점차 커지기 때문에 핵/세포질 비는 증가하게 된다. 이러한 세포로 이루어진 곳과 과각화증이 진행된 부위에 아세트산을 가하여 탈수시키면 빛을 더 강하게 반사시키는 성질을 갖게 되며, 따라서 조명하에서 좀 더 하얗게 보이게 된다. 이러한 성질을 "acetowhite"라고 부르는데, ViziLite®에서 발산되는 청색광은 아세트산의 이러한 효과를 더 현저하게 보여주는 것으로 생각된다. 최근에는 ViziLite®단독 제품은 나오지 않고, toluidine blue system을 함께 이용한 ViziLite Plus®로 생산되고 있다(Fig. 4). 구강 편평상피세포암 및 구강 전암병소의 진단에 대한 ViziLite®의 효용성을 평가한 연구들에서 대상 환자의 포함기준이 많이 달라 결과를 해석하는 데 어려움이 있다. Farah 등의 연구에서는 ViziLite®의 민감도는 100%이며 특이도는 0%라고 하였고[5], Ram 등의 연구에서는 민감도는 100%이고 특이도는 14.2%라고 하였다[6]. 따라서

Fig. 4. Vizilite (Zila, Incorporated, AZ, USA; 수입원 NooriGen Co. Ltd, Seoul, Korea)

ViziLite®는 민감도는 높고 특이도는 낮다고 할 수 있는데, 이는 화학 발광 검사법이 진성 병소를 잘 발견해 내기는 하지만, 정상조직도 양성으로 나타날 가능성이 높다는 것을 의미한다.

Exfoliative cytopathology: Oral CDx

Cytopathology는 점막에서 smear, scraping 등을 이용하여 세포 샘플을 채취하여 현미경 검사를 하는 것이다. Oral CDx Brush system이 그 예이다. CDx 는 임상적으로 악성으로 의심되는 정도가 낮아 일반적인 상황에서 조직생검을 시행하지 않는 경우에 사용하도록 개발되었다. CDx가 확진 검사는 아니기에, atypical 혹은 양성반응 등 비정상적인 CDx 결과가 나오면, 임상가들은 추가적인 조직생검을 시행해야 한다. Brush biopsy의 목적은 의심되는 구강병변에서 조직 생검처럼 통증이나 불편감을 야기하지 않으며 세포를 채취하는 것으로, 고안된 brush를 이용해 상피세포를 채취하며, 채취한 샘플은 슬라이드에 고정시키고, modified Papanicolaou test 방법으로 염색한 후, 컴퓨터를 이용한 이미지 시스템을 이용하여 현미경으로 분석한다. 결과는 세포 형태가 상피이형성 혹은 carcinoma일 때, 양성으로, 비정상적인 상피 변형을 보이지만 진단이 확실하지 않을 때 "atypical"로 보고된다. Oral CDx의 사용에 대해서는 논란이 존재하는데, 높은 위양성 혹은 위음성률 때문이다. 여러 문헌에서 상반되는 결과들을 보고하였기에, 대부분의 문헌은 이 방법에 대해 추가적인 연구가 필요할 것으로 보고있다. Oral CDx의 결과와 관계없이 임상적으로 의심되는 병변일 경우 조직생검을 해야 할 것이다.

Vital Staining: Toluidine Blue

Tolonuim chloride 혹은 toluidine blue(TB)는 구강에서 점막 이상을 발견하기 위한 보조기구로 오랜동안 사용되어 왔다. TB는 이염색염료(metachromatic dye)로 임상적으로 악성 세포를 염색시키나, 정상 점막조직은 염색시키지 않는다. TB 염색에 대해서는 두가지 기전이 제시되고 있다. 악성세포는 DNA 합성이 증가되었기 때문에 염료가 악성세포의 핵에 부착된다는 가설과, 염료가 불규칙하게 배열된 종양 세포 사이에 침투한다는 가설이다. TB를 임상적으로 사용하는 방법은 환자가 염료로 구강 전체를 가글한 후, 의사가 파랗게 염색된 부분이 있는지 검사하는 것이다. 악성 병변은 어두운 청색으로, 이형성된 병변은 이형성의 정도에 따라 다른 농도의 파란색으로 염색된다. 파랗게 염색되는 부분은 조직생검이 필요하다는 것을 의미한다. 때때로, 염료는 정상 점막에 남아 있기도 하는데, 이것은 acetic acid로 닦아낼 수 있다. 보통 거칠거나 각화층이 있는 표면(혀 배면, 치은열구)에서 염료가 남아있다. 염증이 있는 곳에서도 종종 염색되므로, 모든 양성 병변은 위양성을 줄이기 위해 14일 후 다시 염색하여 관찰하여야 한다. Toluidine blue는 또한 상기도부분에서 이전에 종양치료를 했던 환자에게서도 재발 유무를 확인하기 위해 시진과 더불어 사용할 수 있다. 최근의 보고들에서 toluidine blue 염색과 악성 종양으로 진행될 수 있는 유전체 불안정 - 유전체 소실(alleic loss) 혹은 이형접합체소실 (loss of heterozygosity) - 간의 관계가 밝혀졌다. 또한 종단연구를 통해 toluidine blue가 이형접합체 소실이 있는 병변을 식별할 수 있었고, 이것이 구강암으로 진행하는 것을 보여주었다[7].

Saliva as a Diagnostic Tool

구강암세포는 타액에 침지되어 있으며, 편평상피세포암 환자 타액의 proteome을 분석하는 것은 잠재적인 암의 분자표지자(biomarker)를 발견하기위한 접근법이다. 타액은 다른 방법에 비해 침습도가 적고 쉽게 얻을 수 있기에, 많은 양의 타액 샘플을 모아 분석할 수 있다. 이렇게 하여 발견된 분자표지자는 clinical

assay로 만들어 임상적으로 적용할 수 있을 것이다[8]. 현재까지 타액 단백질을 분석하여 구강암 진단을 위한 분자표지자를 찾기 위한 많은 연구가 행해지고 있으며, 타액에 용해되는 CD44가 높은 특이도(specificity)로 편평상피세포암 환자에서 상승된 수치를 보였다[9]. 종양 표지자인 cytokeratin19 fragment Cyfra 21-1, tissue polypeptide antigen, cancer antigen 125 수치가 편평상피세포암 환자에서 유의하게 높아졌으며, 이 세 표지자를 병용하였을 때, 환자의 혈청에서 측정한 것과 비슷한 진단적 값을 가졌다[10]. 타액내의 p53 auto-antibody의 level도 혈청에서의 level과 연관되어 있다[11]. Hu 등은 편평상피세포암 환자와 정상 환자에서의 proteome을 비교하였고, 5개의 선정한 분자표지자 (M2BP, MRP14, CD59, catalase, profilin)를 했을 때, 편평상피세포암을 발견하는데 93%의 민감도와 83%의 특이도를 보였다고 보고하였다[8]. Wei 등은 타액에서의 대사산물(salivary metabolite)을 이용하여 편평상피세포암 환자를 정상인 및 백반증 환자와 비교하였을 때, valine, lactic acid, phenylalanine level이 차이를 보이며, 정확성(0.89, 0.97), 민감도 (86.5%, and 94.6%), 특이도 (82.4%, and 84.4%), positive predictive value (81.6%, and 87.5%)를 보였다고 한다[12]. 이에 salivary metabolome의 구강암 진단 방법으로서의 가능성을 보여주었다. 이외에도 타액내의 microRNAs(miRNA)를 이용하여 구강내 종양표지자로서의 가능성을 살펴본 연구에서, miR-125a와 miR-200a가 건강한 사람에 비해 편평상피세포암 환자에서 유의하게 낮게 발현되어, 타액에서 miRNA를 이용한 종양 진단의 가능성을 보여주었다[13].

Ⅲ. 고찰 및 결론

구강암 진단은 암의 유무 확인 및 조기 발견으로 이루어진다. 악성종양이 증상을 나타내기 전에 조기 발견하는 것은 사망률을 낮추며, 몇몇 종류의 악성종양은 조기에 발견했을 때, 회복 가능성이 더 높아진다. 이에 여러 나라에서 악성종양 진단방법에 대해 임상적인 연구를 진행되고 있다. 그러나, 구강암의 진단을 위한 진단방법이 개발되었음에도 불구하고, 현재까지 표준화된 진단방법은 없다. 구강암에 대한 진단은 치과의사나 의사의 정기 검진 중에 이루어지며, 백반이나 홍반이 있는 부위를 찾는 것이다. 구강암 발생의 위험성이 높은 구강저, 혀의 앞부분 및 측면, 연구개를 확인해야하며, spectroscopy, chemoilumin escence, exfoliative cytopathology, vital Staining 등의 추가적 진단 방법을 사용할 수 있다.

아직까지 개발된 간편 구강암 진단방법이 구강암 사망률을 낮춘다는 보고는 되지 않았으나, 구강암 간편진단법들은 구강암의 조기 진단에 많은 기여를 할 것으로 생각된다. 그러나 구강암의 간편 진단 방법이 전적으로 유용성만 가지고 있지 않고, 구강암이 존재하더라도 위음성 (False-negative) 이 나올 수 있으며, 이러한 결과를 받은 환자의 경우 증상이 있더라도 다른 검사를 받는 것이 미루어질 수 있는 위험이 있다. 특히 exfoliative cytology는 위음성이 나타날 확률이 높다[4]. 반면, 위양성 (False-positive)이 나타날 수 있으며, 이는 환자에게 불안을 준다. 구강암의 조기 발견을 위해 최근에 연구된 spectroscopy, chemoiluminescence, exfoliative cytopathology, vital Staining등의 진단 방법을 사용할 수 있지만, 현재까지 표준화된 간편 진단 방법은 없다. 구강암에 대한 인지도를 높이고 새로운 구강암 진단방법들에 대한 잘 디자인된 임상연구가 필요하다. 일반인들의 구강암에 대한 인식의 증가와 임상의로 하여금 전통적인 방법으로 발견 할 수 없었던 병변을 발견하도록 도와주는 효과적인 기구의 병행이 필요하다 하겠다.

참 고 문 헌

1. Brinkman BM, Wong DT. Disease mechanism and biomarkers of oral squamous cell carcinoma. Curr Opin Oncol 2006;18(3):228-33.
2. Funk GF, Karnell LH, Robinson RA, Zhen WK, Trask DK, Hoffman HT. Presentation, treatment, and outcome of oral cavity cancer: a National Cancer Data Base report. Head Neck 2002;24(2):165-80.
3. Sandler HC. Cytological screening for early mouth cancer. Cancer 1962;15:1119 -24.
4. Messadi DV, Wilder-Smith P, Wolinsky L. Improving oral cancer survival: the role of dental providers. J Calif Dent Assoc 2009;37(11):789-98.
5. Farah CS, McCullough MJ. A pilot case control study on the efficacy of acetic acid wash and chemiluminescent illumination (ViziLite) in the visualisation of oral mucosal white lesions. Oral Oncol 2007;43(8):820-4.
6. Ram S, Siar CH. Chemiluminescence as a diagnostic aid in the detection of oral cancer and potentially malignant epithelial lesions. Int J Oral Maxillofac Surg 2005 ;34(5):521-7.
7. Zhang L, Williams M, Poh CF, et al. Toluidine blue staining identifies high-risk primary oral premalignant lesions with poor outcome. Cancer Res 2005;65(17): 8017-21.
8. Hu S, Arellano M, Boontheung P, et al. Salivary proteomics for oral cancer biomarker discovery. Clin Cancer Res 2008;14(19):6246-52.
9. Franzmann EJ, Reategui EP, Pedroso F, et al. Soluble CD44 is a potential marker for the early detection of head and neck cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2007;16(7):1348-55.
10. Nagler R, Bahar G, Shpitzer T, Feinmesser R. Concomitant analysis of salivary tumor markers--a new diagnostic tool for oral cancer. Clin Cancer Res 2006; 12(13):3979-84.
11. Tavassoli M, Brunel N, Maher R, Johnson NW, Soussi T. p53 antibodies in the saliva of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. Int J Cancer 1998;78(3):390-1.
12. Wei J, Xie G, Zhou Z, et al. Salivary metabolite signatures of oral cancer and leukoplakia. Int J Cancer 2010.
13. Park NJ, Zhou H, Elashoff D, et al. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. Clin Cancer Res 2009;15(17):5473-7.