

## ASC-H 환자의 p16<sup>INK4a</sup> 면역세포화학염색 검사의 유용성

임광일 · 강여주 · 김태은 · 박경신  
정은선 · 최영진 · 이교영 · 강창석  
이아원

가톨릭대학교 의과대학 병원병리학교실

### The Usefulness of p16<sup>INK4a</sup> Immunocytochemical Staining in ASC-H Patients

Kwang Il Yim · Yeo-Ju Kang · Tae Eun Kim · Gyeongsin Park · Eun Sun Jung  
Yeong-Jin Choi · Kyo-Young Lee · Chang Seok Kang · Ahwon Lee

Department of Hospital Pathology, Seoul St. Mary's Hospital, The Catholic University of Korea College of Medicine, Seoul, Korea

**Background:** The grey zone of cervical cytology, and in particular atypical squamous cells, cannot exclude HSIL (ASC-H) causes diagnostic difficulties and increases medical expenses. We analyzed p16<sup>INK4a</sup> expression in ASC-H liquid-based cytology specimens (LBCS) to develop more effective methods for the management of ASC-H patients. **Methods:** We carried out p16<sup>INK4a</sup> immunostaining with 57 LBCS of ASC-H diagnostic categories, all of which were histologically confirmed and 43 cases of which were compared with the results of a human papillomavirus (HPV) chip test. **Results:** p16<sup>INK4a</sup> immunostaining with ASC-H LBCS was positive in 20% (3/15) of cervicitis, 25.0% (3/12) of tissue-low-grade squamous intraepithelial lesion, 75.0% (18/24) of tissue-high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL), and 100% (6/6) of invasive cancer cases. The positivity of p16<sup>INK4a</sup> in LBCS was correlated with higher grade of histologic diagnosis ( $r=0.578$ ,  $p=0.000$ ). The sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), and negative predictive value (NPV) of p16<sup>INK4a</sup> immunostaining for the prediction of tissue-HSIL+ were 80.0%, 77.8%, 80.0%, and 77.8%, respectively. The sensitivity, specificity, PPV, and NPV of p16<sup>INK4a</sup> immunostaining plus HPV chip test for predicting tissue-HSIL+ were 71.2%, 86.4%, 84.2%, and 79.2%. **Conclusions:** p16<sup>INK4a</sup> immunostaining as well as HPV chip testing with remaining LBCS with ASC-H are useful objective markers for the prediction of tissue-HSIL+.

접수: 2011년 2월 28일  
게재승인: 2011년 4월 6일

책임저자: 이아원  
우 137-140 서울시 서초구 반포동 505  
서울성모병원 병원병리학교실  
전화: +82-2-2258-2771  
FAX: +82-2-2258-1628  
E-mail: klee@catholic.ac.kr

\*This work was supported by National Research Foundation of Korea Grant funded by the Korean Goverment (2009-0087026).

**Key Words:** Cervical cancer; Cervical intraepithelial neoplasia; p16<sup>INK4a</sup>; DNA probes, HPV

자궁경부암은 15세에서 44세까지의 여성에게 발생하는 암 중, 전 세계적으로 두 번째로 많은 암이며, 암으로 인한 사망 원인에 있어 서도 두 번째를 차지한다.<sup>1</sup> Pap 검사는 자궁경부암을 진단하는 데 있어 가장 성공적인 선별 검사 중 하나로, 이 검사가 도입된 이래 자궁경부암의 발생률과 사망률이 감소하였다.<sup>2</sup> 그러나, 세포학적 검사는 주관적 성격을 완전히 배제할 수 없으며, 특히 진단이 애매한 경계영역의 증례를 진단할 때, 진단의 재현성이 크게 떨어질 수 있다.<sup>3,4</sup>

이러한 경계영역을 Bethesda system에서는 atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US)와 atypical squamous cells, cannot exclude HSIL (ASC-H)로 분류하였다.<sup>5</sup> 이 중, ASC-US에서 high grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) 이상으로 진단되는 비율은 11.6%인데 반해, ASC-H에서 진단되는 비율은 37.0-40.0%이다.<sup>6,7</sup>

ASC-US는 인유두종바이러스(human papillomavirus, HPV) 검

사, Pap 검사의 반복 등 상대적으로 느슨한 추적관찰을, ASC-H의 경우는 먼저 질학대경검사와 생검을 시행하고, HSIL 이상의 진단을 찾지 못한 경우에는 밀착추적 관찰과 HPV 검사를 시행하게 된다.<sup>8</sup> 이렇게 경계영역에 속한 증례들을 해결하기 위한 여러 가지 노력들이 있어왔지만 아직도 많은 문제점들이 완전히 해결되지 않아 시간 손실이 심하며, 의료 비용 또한 증가하는 원인이 되고 있다.

그러나 최근 자궁경부암의 발생 과정에서 p16<sup>INK4a</sup>의 중요성이 부각되면서, 자궁경부 액상세포검사(liquid-based cervical cytology) 검체에 p16<sup>INK4a</sup> 면역세포화학염색을 시행한 연구들이 있었고, 이 연구들 모두 cervical intraepithelial neoplasia (CIN)2 이상의 증례에서 p16<sup>INK4a</sup>의 과발현을 보고하였으며 p16<sup>INK4a</sup> 면역화학염색이 Pap 검사의 경계영역에 속하는 증례를 판독하는 데 도움이 될 것이라고 제시하였다.<sup>9-13</sup> 그러나 실제로 ASC-H 등의 경계영역에 대한 연구는 그 증례 수가 충분치 않고 일치된 결과를 보이지 않으며,<sup>14-17</sup> ASC-H만을 중점적으로 연구한 보고도 거의 없는 실정이다. 이에

본 저자들은 ASC-H로 진단되었던 액상 자궁경부 세포진 검체에 p16<sup>INK4a</sup> 면역세포화학염색을 시행하여, 이 염색이 Pap 검사의 경계 영역을 진단하는 데 실제적인 도움을 줄 수 있는지 알아보기로 하였다.

## 재료 및 방법

### 연구 대상

2008년 10월부터 2010년 11월까지 가톨릭대학교 의과대학 서울 성모병원에서 Pap 검사를 시행하여 ASC-H를 진단받고, 이후 생검이나, 원추조직절제술, 단순 또는 근치적 자궁절제술을 시행하여 조직 검체를 얻은 환자 57명을 대상으로 하였다. 또한 연구에 앞서 환자의 임상 및 병리 기록지를 참고하여 진단 당시의 나이 및 HPV chip 검사 결과를 검색하였으며, 각 환자 검체의 실험적 사용을 위한 임상 윤리 위원회의 허가를 얻었다.

### 자궁경부 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색

자궁경부 액상세포검사 슬라이드(Suerpath<sup>TM</sup>, Becton-Dickinson/TriPath, Burlington, NC, USA)는 자일렌에 담가 커버슬라이드를 제거한 후 100% 알코올로 자일렌을 제거하여 함수하였으며, 염색은 CINtec p16<sup>INK4a</sup> cytology kit (Dako Cytomation AS, Glostrup, Denmark)를 사용하여 제작자의 지침서에 준하여 시행하였다. 이를 간단히 기술하면, 98°C 온수에 10분간 담가 항원복구 과정을 거친 후 내인성 효소 제거를 위하여 3%의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 처리하고 p16<sup>INK4a</sup> 일차항체(clone E6H4<sup>TM</sup>, ready-to-use) 처리 후 실온에서 30분간 방치하였으며, 발색과정을 거친 후 혜마톡실린으로 대조 염색하였다.

자궁경부 액상세포 검체에서 시행한 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색은 양성 세

포의 숫자 및 염색의 강도 두 가지를 기준으로 판독하였다. 즉 핵과 세포질에서 짙은 갈색으로 염색되는 상피세포를 세어 그 수가 10개 이상일 때를 p16<sup>INK4a</sup> 과발현으로 간주하여 양성으로 판독하고(Fig. 1A), 염색된 세포가 전혀 없거나, 염색이 되더라도 염색 강도가 약한 세포만이 관찰되거나 혹은 짙은 갈색으로 염색된 상피세포가 10개 미만일 때를 음성으로 판독하였다. p16<sup>INK4a</sup> 면역세포화학염색된 액상세포 슬라이드는 조직 결과를 모르는 상태에서 2명의 병리 의사가 판독하였고, 진단이 불일치한 증례의 경우에는 다인용 협의 경 하에서 협의하여 재판독하였다.

### 자궁경부 조직 p16<sup>INK4a</sup> 면역화학염색

자궁경부 조직 슬라이드는 모두 재검하여 대표 블록을 선정한 후 4 μm 절편을 만들어 p16<sup>INK4a</sup> 면역화학염색에 사용하였다. 이때 검체는 탈파라핀 및 함수 과정을 거친 후 내인성 효소 제거를 위하여 0.3%의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 처리하였다. 그리고 0.01 M citrate 완충액(pH 6.0)에 담가 microwave vacuum histoprocessor (RHS-1, Milestone, Bergamo, Italy)를 사용, 121°C에서 15분간 열을 가하여 항원복구를 진행하고, p16<sup>INK4a</sup> 일차 항체(1:50, E6H4, Dako) 처리 후 실온에서 30분간 방치하였다. 그 후 Dako ChemMate<sup>TM</sup> EnVision kit (Dako)를 이용하여 발색과정을 거친 후 혜마톡실린으로 대조 염색하고 협미경으로 관찰하였다.

자궁경부 조직에서 시행한 p16<sup>INK4a</sup> 면역화학염색은 병변의 평면 세포상피 전체 두께 아래 2/3 이상에서 미만성으로 세포의 핵과 세포질에 강하게 염색되는 경우를 p16<sup>INK4a</sup> 과발현으로 간주하여 양성으로 판독하였다(Fig. 1B).

### HPV DNA chip 검사

병리과 전산프로그램을 통하여 환자가 자궁경부 액상세포진검사

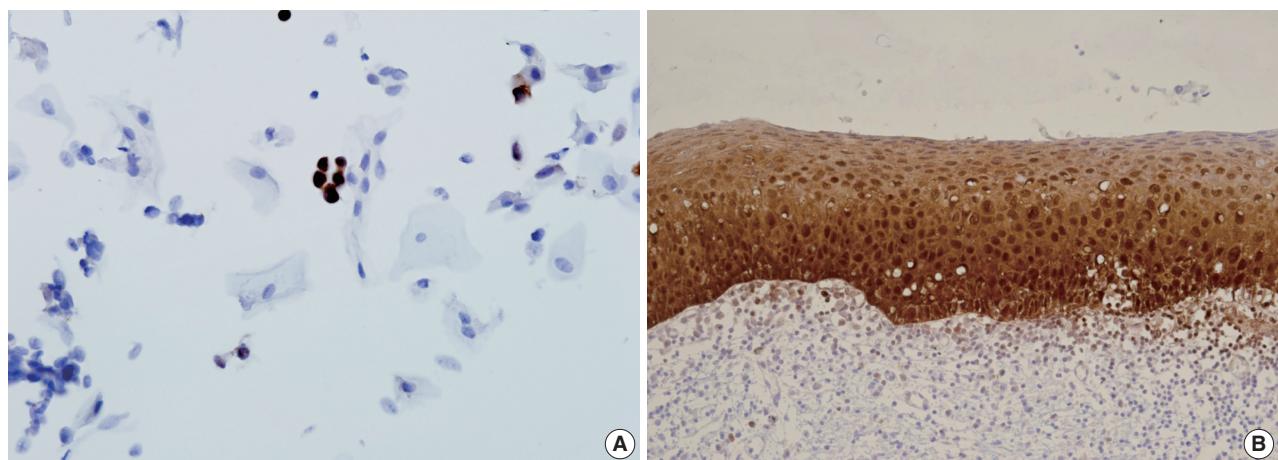


Fig. 1. (A) p16<sup>INK4a</sup> immunocytochemical staining in liquid-based cytology is strongly positive in morphologically atypical cells. (B) p16<sup>INK4a</sup> immunohistochemical staining in cervical tissue is strongly and diffusely positive throughout the full thickness.

후 잔여 검체로 HPV DNA chip 검사(MyHPV DNA chip, MyGene, Seoul, Korea)를 시행 받은 경우 그 결과를 확인하였다.

## 통계

통계는 SPSS ver. 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용, 카이 제곱검정 및 스파이어만 상관분석법으로 분석하였으며,  $p < 0.05$ 를 통계적으로 유의하다고 정의하였다.

## 결 과

### 환자 요약

자궁경부 액상세포 검사에서 ASC-H 진단 후 조직검사를 통하여 조직검체를 얻은 57명의 환자를 대상으로 하였다. 환자는 24세에서 79세로 평균나이는 47세였다. 자궁경부 조직검사상 자궁경부염이 15예, 원반세포증(koilocytosis) 9예, CIN1이 3예, CIN2이 4예, CIN3이 19예, 침윤암이 6예로 진단되었다. 이 중 원반세포증과 CIN1을 조직-low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL)군, CIN2와 CIN3를 조직-HSIL군으로 분류하였다.

전체 57명의 ASC-H 환자 중 43명에게 잔여 액상세포검체를 이용하여 HPV DNA chip 검사를 진행하였는데, 이 중 10명(23.3%)이 HPV 음성, 33명(76.7%)은 HPV 양성이었다. 33명의 HPV 양성 환자 중 15명(45.5%)은 HPV 유형 16 또는 18의 감염이었으며 나머지 18명(54.5%)은 그 외 유형의 HPV 감염이었다.

### 자궁경부 액상세포 및 조직 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색 결과

ASC-H 자궁경부 액상세포 검체에서 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색을 진행한 결과, p16<sup>INK4a</sup> 양성률은 총 57예 중 30예(52.6%)였다. 환자의 조직

**Table 1.** Result of cytology p16<sup>INK4a</sup> immunostaining according to clinicopathological characteristics

| n                               | Cytology p16 <sup>INK4a</sup> |              | p-value   |
|---------------------------------|-------------------------------|--------------|-----------|
|                                 | Negative (%)                  | Positive (%) |           |
| Age (yr)                        |                               |              |           |
| ≤ 40                            | 22                            | 9 (40.9)     | 13 (59.1) |
| > 40                            | 35                            | 18 (51.4)    | 17 (48.6) |
| Histologic results              |                               |              |           |
| Cervicitis                      | 15                            | 12 (80.0)    | 3 (20.0)  |
| LSIL                            | 12                            | 9 (75.0)     | 3 (25.0)  |
| HSIL                            | 24                            | 6 (25.0)     | 18 (75.0) |
| Cancer                          | 6                             | 0 (0)        | 6 (100)   |
| Histologic p16 <sup>INK4a</sup> |                               |              |           |
| Negative                        | 28                            | 20 (71.4)    | 8 (28.6)  |
| Positive                        | 29                            | 7 (24.1)     | 22 (75.9) |

LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL, high grade squamous intraepithelial lesion.

진단별로는 자궁경부염 총 15예 중 3예(20%), 조직-LSIL 총 12예 중 3예(25.0%), 조직-HSIL 총 24예 중 18예(75.0%), 침윤암 총 6예 중 6예(100%)에서 양성소견을 보였다(Table 1). 조직 진단의 등급이 높아질수록 자궁경부 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색의 양성률은 증가하였다( $r = 0.578$ ,  $p = 0.000$ ).

자궁경부 조직 검체에서 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색을 진행한 결과 p16<sup>INK4a</sup> 양성률은 총 57예 중 29예(50.9%)였다. 조직 진단별로는 자궁경부 염 및 조직-LSIL 총 27예 중 2예(7.4%), 조직-HSIL 총 24예 중 21예(87.5%), 침윤암 총 6예 중 6예(100%)에서 양성소견을 보였으며, 조직 진단의 등급이 높아질수록 자궁경부 조직 검체의 p16<sup>INK4a</sup> 면역 염색 양성률이 증가하였다( $r = 0.777$ ,  $p = 0.000$ ).

자궁경부 조직 검체의 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색과 ASC-H 자궁경부 액상 세포 검체의 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색 간에 결과 일치율은 총 57예 중 42예 (73.7%) ( $p = 0.000$ , kappa value = 0.473)였으며, 환자의 나이에 따른 자궁경부 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색 양성률과의 유의한 차이는 없었다( $p = 0.439$ ) (Table 1).

### 자궁경부 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색 및 HPV DNA chip의 임상적 유용성

ASC-H 자궁경부 액상세포 검체에서 p16<sup>INK4a</sup> 염색 검사의 임상적 유용성을 알아보기 위하여 조직-LSIL 이상, 조직-HSIL 이상, 조직 p16<sup>INK4a</sup> 양성을 기준으로 민감도, 특이도, 양성예측률, 음성예측률 등을 비교하였을 때, 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 염색은 조직-HSIL 이상을 기준으로 하였을 때 가장 좋은 민감도, 특이도, 양성예측률 및 음성 예측률(각각 80.0%, 77.8%, 80.0%, 77.8%)을 보였다(Table 2).

HPV DNA chip 검사는 조직-LSIL 이상을 기준으로 하였을 때 가

**Table 2.** Clinical utility of cytology p16<sup>INK4a</sup> immunostaining and HPV chip test

| Histology results                        | ≥ LSIL (%) | ≥ HSIL (%) | Histology p16 <sup>INK4a</sup> (%) |
|--|------------|------------|------------------------------------|
| Cytology p16 <sup>INK4a</sup>            |            |            |                                    |
| Sensitivity                              | 64.3       | 80.0       | 75.9                               |
| Specificity                              | 80.0       | 77.8       | 71.4                               |
| PPV                                      | 90.0       | 80.0       | 73.3                               |
| NPV                                      | 44.4       | 77.8       | 74.1                               |
| HPV chip                                 |            |            |                                    |
| Sensitivity                              | 84.4       | 90.5       | 90.0                               |
| Specificity                              | 45.5       | 36.4       | 34.8                               |
| PPV                                      | 81.8       | 57.6       | 54.5                               |
| NPV                                      | 50.0       | 80.0       | 80.0                               |
| Cytology p16 <sup>INK4a</sup> + HPV chip |            |            |                                    |
| Sensitivity                              | 70.8       | 71.2       | 70.0                               |
| Specificity                              | 89.5       | 86.4       | 78.3                               |
| PPV                                      | 89.5       | 84.2       | 73.7                               |
| NPV                                      | 70.8       | 79.2       | 75.0                               |

HPV, human papillomavirus; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL, high grade squamous intraepithelial lesion; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

**Table 3.** Correlation between cytology p16<sup>INK4a</sup> immunostaining results and HPV infection status

|                     | Cytology p16 <sup>INK4a</sup> |              | Total |
|---------------------|-------------------------------|--------------|-------|
|                     | Negative (%)                  | Positive (%) |       |
| HPV test            |                               |              |       |
| Negative            | 7 (70.0)                      | 3 (30.0)     | 10    |
| Positive            | 14 (42.4)                     | 19 (57.6)    | 33    |
| Total               | 21                            | 22           | 43    |
| p-value             | 0.162                         |              |       |
| HPV type            |                               |              |       |
| 16, 18 <sup>a</sup> | 5 (33.3)                      | 10 (66.7)    | 15    |
| Others <sup>b</sup> | 9 (50.0)                      | 9 (50.0)     | 18    |
| Total               | 14                            | 19           | 33    |
| p-value             | 0.482                         |              |       |

<sup>a</sup>HPV 16 or HPV18 infection; <sup>b</sup>HPV non-16,18 infection.

HPV, human papillomavirus.

장 좋은 민감도, 특이도, 양성예측률 및 음성예측률(각각 84.4%, 45.5%, 81.8%, 50.0%)을 보였다(Table 2). 자궁경부 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색 및 HPV DNA chip 검사를 모두 시행한 총 43예 중, 자궁경부 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색과 HPV DNA chip 검사 결과가 모두 양성인 증례를 양성으로, 어느 하나라도 음성일 경우에는 음성으로 보고, 민감도, 특이도, 양성예측률, 음성예측률을 비교하였으며, 조직-HSIL 이상을 기준으로 하였을 때 민감도 71.2%, 특이도 86.4%, 양성예측률 84.2% 및 음성예측률 79.2%를 보였다(Table 2).

### 자궁경부 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색과 HPV DNA chip 결과의 비교

ASC-H 자궁경부 액상세포 검체 p16<sup>INK4a</sup> 면역염색 결과와 HPV 감염 여부, HPV 유형과의 관계를 알아보았을 때, HPV DNA chip 결과에 따른 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 발현율의 유의한 차이는 보이지 않았다( $p = 0.162$ ). 그리고 HPV 양성 환자 중 HPV 유형(HPV 유형 16,18 vs 비-16,18) ( $p = 0.271$ )에 따른 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 발현율의 유의한 차이 또한 보이지 않았다( $p = 0.482$ ) (Table 3).

## 고 찰

HPV와 자궁경부암이 깊은 관계가 있다는 것은 이미 널리 알려진 사실이다.<sup>18-20</sup> 특히 고위험군 HPV는 99% 이상의 자궁경부암에서 발견된다.<sup>21</sup> 고위험군 HPV는 숙주세포의 유전자에 끼어들어 가서 E6, E7 발암단백질을 발현하는데, E6는 p53 종양억제 단백질을 분해하며, E7은 retinoblastoma (Rb) 단백질을 비활성화시켜, 세포가 무한 증식하게 만든다.<sup>22,23</sup> 정상 상태에서 p16<sup>INK4a</sup>은 cyclin-dependent kinase의 억제 단백질로, Rb 단백질을 인산화시켜서 세포 분열을 억제하는 음성되며임 작용을 한다.<sup>24,25</sup> 그런데 HPV의 E7 발암단백질에 의해 음성되며임이 작동되지 않게 되면 그 반작용으로

p16<sup>INK4a</sup>은 증가되고, 면역조직화학염색으로 증가된 p16<sup>INK4a</sup>을 찾아낼 수 있게 된다.<sup>26</sup> 따라서 p16<sup>INK4a</sup>이 발현된 것은 HPV가 단순히 존재한다는 것을 넘어서 활동적인 상태에 있다는 것을 의미한다.<sup>27</sup>

본 연구에서는 자궁경부 세포검사에서 경계영역에 속하여 자궁경부염에서 침윤암까지의 가능성을 모두 배제할 수 없어 환자 치료 방향 결정에 어려움이 있는 ASC-H 환자를 세분하고자 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 염색을 시도하였으며, 자궁경부 조직학적 진단의 등급이 높아질수록 자궁경부 세포진 p16<sup>INK4a</sup> 양성률이 증가함을 확인하였다( $r = 0.578$ ,  $p = 0.000$ ).

또한 ASC-H 환자의 자궁경부 세포진 p16<sup>INK4a</sup> 면역조직화학염색 결과는 조직진단 HSIL 이상인 환자를 민감도 80.0%, 특이도 77.8%, 양성예측률 80.0%, 음성예측률 77.8%로 구별할 수 있었으며, 자궁경부 세포진 p16<sup>INK4a</sup> 면역조직화학염색 결과와 HPV DNA chip 결과를 종합하여 판독할 경우 HSIL 이상인 환자를 민감도 71.2%, 특이도 86.4%, 양성예측률 84.2%, 음성예측률 79.2%로 구별할 수 있었다. 이전 ASCUS/ASC-H를 대상으로 p16<sup>INK4a</sup> 염색 결과로 CIN2 이상을 구별하고자 한 연구에서 Duncan 등<sup>14</sup>은 민감도 48.4%, 특이도 67.2%, Guo 등<sup>15</sup>은 민감도 54%, 특이도 52%로 진단적 유용성이 떨어진다고 보고한 반면, Nieh 등<sup>16</sup>은 민감도 95%, 특이도 96%, Sung 등<sup>17</sup>은 민감도 80%, 특이도 77.3%로 CIN2 이상을 구별하는 데 유용하다고 보고하였다. Sung 등<sup>17</sup>의 보고에서는 ASC-H 검체에서의 민감도 및 특이도가 각각 100%, 80%로 본 연구의 민감도 80.0%, 특이도 77.8%와 비교해 볼 때 민감도에서 차이를 보였다. 그 이유로 대상군의 차이, 액상세포검체(Thin Prep<sup>®</sup> vs SurePath<sup>TM</sup>)의 차이 및 양성 판정 기준의 차이를 들 수 있겠다.

Sung 등<sup>17</sup>은 양성 판정 기준을 p16<sup>INK4a</sup> 염색 강도가 약하여도 분명히 핵 또는 세포질의 양성을 보이는 세포가 관찰될 때로 정의하였다. 반면 저자들은 Duncan 등<sup>14</sup>의 보고와 같이 약하게 염색되는 세포들에 반응성 세포가 다수 포함되는 것을 관찰하여 짙은 갈색으로 염색되는 세포들만을 양성 세포로 그 수가 10 이상일 때 양성으로 판독하였다.

자궁경부 CIN 조직진단 시 p16<sup>INK4a</sup> 면역조직화학검사를 같이 시행하면 진단의 정확도를 높일 수 있다고 보고되고 있다.<sup>28,29</sup> 본 연구에서는 자궁경부 조직진단이 LSIL 이하인 병소 총 27예 중 2예(7.4%)에서 조직 p16<sup>INK4a</sup>이 양성이었고, 조직진단이 HSIL 이상의 병소 총 30예 중 3예(10%)에서 조직 p16<sup>INK4a</sup>가 음성으로 나타났는데, 이는 이전 발표와 유사한 소견이었다.

또한 ASC-H 환자의 자궁경부 세포진 p16<sup>INK4a</sup> 결과로 조직 p16<sup>INK4a</sup> 양성 환자를 구별하고자 시도하였으며, 그 민감도 및 특이도는 각각 75.9% 및 71.4%로 조직-HSIL 이상을 구별하고자 할 때의 민감도, 특이도와 유사하지만 조금 낮은 결과를 보였다.

한편 p16<sup>INK4a</sup> 면역화학염색은 비정형 세포에 염색되는 이외에도, 배경세포에 비특이적으로 염색되거나, 세균, 다헥거대세포와 난관화생에 교차 반응할 수 있다고 보고되어 있다.<sup>9-11,30</sup> 본 연구에서 나타난 낮은 특이도는 이런 반응성 세포들 때문이라 생각된다.

그 외에, 자궁 전 절제를 시행하지 않은 경우, 실제로는 HSIL 이

상의 병변이 있을지라도 조직검사에서 그런 병변을 찾지 못한 경우나, HPV의 감염이 있고, p16<sup>INK4a</sup>의 발현이 있지만, 아직 자궁이형성이 나타나지 않았거나 LSIL에 머무는 경우도 생각해봐야 하겠다.

일부 연구 결과에서는 위양성 세포들을 형태학적으로 구분하여 음성세포로 판독하고, 비정형 세포에 염색된 경우만 양성으로 판독하기도 하였다.<sup>10,11</sup> 그러나 본 연구에서는 ASC-H를 대상으로 하였기에 비정형 세포에 염색된 경우와 세포에 비특이적으로 혹은 교차 반응하여 염색된 경우를 형태학적으로 구분하기 매우 어려웠고, 구분하여 양성세포를 판독하였을 때, 두 병리의사 간의 의견이 일치하지 않았다. 때문에 저자들은 형태학적으로 비정형 세포와 반응성 세포를 구분하지 않고 염색된 모든 세포의 숫자를 기록하였다.

p16<sup>INK4a</sup>은 HPV 감염과 연관된 지표이지만, 자궁경부 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 결과와 HPV DNA chip 결과 및 유형 HPV 16, 18 여부는 유의한 상관관계를 보이지 않았다( $p>0.05$ ). 이는 p16<sup>INK4a</sup>이 HPV가 단순히 감염된 경우는 발현되지 않고, 감염이 활발히 진행되어 속주세포가 생리적 반응을 보이는 경우에만 발현되기 때문으로 사료된다.

결론적으로, 본 연구에서는 ASC-H 환자에게 p16<sup>INK4a</sup> 염색을 시행하여 조직-HSIL 이상의 병소를 민감도 80.0%, 특이도 77.8%로 구별할 수 있었으며, HPV DNA chip 검사와 종합할 경우 조직-HSIL 이상의 병소를 민감도 71.2%, 특이도 86.4%로 구별할 수 있었다. 본 결과에 따르면, ASC-H 환자에게서 잔여 액상세포 검체를 이용한 HPV 고위험군 감염 여부 검사 및 p16<sup>INK4a</sup>을 통하여 HSIL 이상의 병소 유무를 예측하는 데 유용하리라 사료된다. 그러나 액상세포 p16<sup>INK4a</sup> 염색 검사가 ASC-H 환자의 치료 방침 결정을 위한 기본 검사로 정착하기 위하여는 광범위한 ASC-H 환자를 대상으로 p16<sup>INK4a</sup> 염색 결과에 따른 자궁경부 조직진단의 차이 및 추적관찰 경과 연구가 필수적이라 하겠다.

## 참고문헌

1. Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of eighteen major cancers in 1985. *Int J Cancer* 1993; 54: 594-606.
2. Denny L. The prevention of cervical cancer in developing countries. *BJOG* 2005; 112: 1204-12.
3. Stoler MH, Schiffman M; Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance-Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study (ALTS) Group. Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. *JAMA* 2001; 285: 1500-5.
4. Lee HK, Kim SN, Khang SK, Kang CS, Yoon HK. Quality control program and its results of Korean Society for Cytopathologists. *Korean J Cytopathol* 2008; 19: 65-71.
5. Bibbo M, Wilbur D. Comprehensive cytopathology. 3rd ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier, 2008; 77-90.
6. Srodon M, Parry Dilworth H, Ronnett BM. Atypical squamous cells, cannot exclude high-grade squamous intraepithelial lesion: diagnostic performance, human papillomavirus testing, and follow-up results. *Cancer* 2006; 108: 32-8.
7. Sherman ME, Solomon D, Schiffman M; ASCUS LSIL Triage Study Group. Qualification of ASCUS: a comparison of equivocal LSIL and equivocal HSIL cervical cytology in the ASCUS LSIL Triage Study. *Am J Clin Pathol* 2001; 116: 386-94.
8. Wright TC Jr, Massad LS, Dunton CJ, et al. 2006 consensus guidelines for the management of women with abnormal cervical cancer screening tests. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 346-55.
9. Saqi A, Pasha TL, McGrath CM, Yu GH, Zhang P, Gupta P. Overexpression of p16INK4A in liquid-based specimens (SurePath) as marker of cervical dysplasia and neoplasia. *Diagn Cytopathol* 2002; 27: 365-70.
10. Sahebali S, Depuydt CE, Segers K, et al. P16INK4a as an adjunct marker in liquid-based cervical cytology. *Int J Cancer* 2004; 108: 871-6.
11. Yoshida T, Sano T, Kanuma T, et al. Immunohistochemical analysis of HPV L1 capsid protein and p16 protein in liquid-based cytology samples from uterine cervical lesions. *Cancer* 2008; 114: 83-8.
12. Juric D, Mahovlić V, Rajhvajn S, et al. Liquid-based cytology: new possibilities in the diagnosis of cervical lesions. *Coll Antropol* 2010; 34: 19-24.
13. Reuschenbach M, Clad A, von Knebel Doeberitz C, et al. Performance of p16INK4a-cytology, HPV mRNA, and HPV DNA testing to identify high grade cervical dysplasia in women with abnormal screening results. *Gynecol Oncol* 2010; 119: 98-105.
14. Duncan L, Jacob S, Hubbard E. Evaluation of p16INK4a as a diagnostic tool in the triage of Pap smears demonstrating atypical squamous cells of undetermined significance. *Cancer* 2008; 114: 34-48.
15. Guo M, Warriage I, Mutyala B, et al. Evaluation of p16 immunostaining to predict high-grade cervical intraepithelial neoplasia in women with Pap results of atypical squamous cells of undetermined significance. *Diagn Cytopathol* 2010; 39: 482-8.
16. Nieh S, Chen SF, Chu TY, Lai HC, Fu E. Expression of p16 INK4A in Papanicolaou smears containing atypical squamous cells of undetermined significance from the uterine cervix. *Gynecol Oncol* 2003; 91: 201-8.
17. Sung CO, Kim SR, Oh YL, Song SY. The use of p16(INK4A) immunocytochemistry in "Atypical squamous cells which cannot exclude HSIL" compared with "Atypical squamous cells of undetermined significance" in liquid-based cervical smears. *Diagn Cytopathol* 2010; 38: 168-71.
18. Ho GY, Burk RD, Klein S, et al. Persistent genital human papillo-

- mavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1365-71.
19. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, *et al.* Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; 189: 12-9.
20. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; 55: 244-65.
21. Bibbo M, Klump WJ, DeCecco J, Kovatich AJ. Procedure for immunocytochemical detection of P16INK4A antigen in thin-layer, liquid-based specimens. *Acta Cytol* 2002; 46: 25-9.
22. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjose S, *et al.* Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 518-27.
23. Keating JT, Cviko A, Riethdorf S, *et al.* Ki-67, cyclin E, and p16INK4 are complimentary surrogate biomarkers for human papilloma virus-related cervical neoplasia. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 884-91.
24. Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature* 1993; 366: 704-7.
25. Nakao Y, Yang X, Yokoyama M, *et al.* Induction of p16 during immortalization by HPV 16 and 18 and not during malignant transformation. *Br J Cancer* 1997; 75: 1410-6.
26. Sano T, Oyama T, Kashiwabara K, Fukuda T, Nakajima T. Expression status of p16 protein is associated with human papillomavirus oncogenic potential in cervical and genital lesions. *Am J Pathol* 1998; 153: 1741-8.
27. Stanley MA. Prognostic factors and new therapeutic approaches to cervical cancer. *Virus Res* 2002; 89: 241-8.
28. Srivastava S. P16INK4A and MIB-1: an immunohistochemical expression in preneoplasia and neoplasia of the cervix. *Indian J Pathol Microbiol* 2010; 53: 518-24.
29. Agoff SN, Lin P, Morihara J, Mao C, Kiviat NB, Koutsky LA. p16(INK4a) expression correlates with degree of cervical neoplasia: a comparison with Ki-67 expression and detection of high-risk HPV types. *Mod Pathol* 2003; 16: 665-73.
30. Klaes R, Friedrich T, Spitzkovsky D, *et al.* Overexpression of p16(INK4A) as a specific marker for dysplastic and neoplastic epithelial cells of the cervix uteri. *Int J Cancer* 2001; 92: 276-84.