

In Situ Hybridization에 의한 자궁경부 상피성 종양에 출현하는 Human Papillomavirus 유형의 특징

한양대학교 의과대학 병리학교실

박 찬 금 · 박 문 향

Characterization of Human Papillomavirus Types in Cervical Epithelial Neoplasia by In Situ Hybridization

Chan Kum Park, M.D. and Moon Hyang Park, M.D.

Department of pathology, College of Medicine, Hanyang University

An in situ DNA hybridization technique was applied to detect human papillomavirus(HPV) DNA, HPV types 6/11 and 16/18, on paraffin sections of 36 cervical condylomatous lesions associated with cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma.

1) HPV DNA sequences were identified in 14 of 36 cervical condylomatous lesions(39.0%); HPV 6/11 in 7 cases(19.0%) and HPV 16/18 in 7 cases(19.0%)

2) With the use of biotinylated HPV 6/11 DNA probes, 5 of 5 condyloma acuminata(100%), 1 of 5 flat condylomata(20%), and 1 of 7 mild dysplasias(14.3%) were positive.

3) With the use of HPV 16/18 DNA probes, 1 of 7 mild dysplasias(14.3%), 2 of 5 moderate dysplasias(40%), 2 of 4 severe dysplasias(50%), and 2 of 5 invasive squamous cell carcinomas(40%) were positive.

4) The positive stainings to HPV DNA probes were primarily detected in koilocytotic nuclei of the superficial epithelium. No positive signals were found in the normal, dysplastic or carcinoma cells.

5) The numbers of positively stained cells were decreased with increasing severity of the lesions from benign condylomas to invasive squamous cell carcinomas.

In conclusion, HPV types 6/11 were more commonly identified in benign condylomatous and low grade intraepithelial lesions than high grade lesions.

However, HPV types 16/18 were identified in high grade CIN and invasive squamous cell carcinomas.

The present results while supporting the concept on HPV 16/18 as the high risk of HPV types in cervical carcinogenesis also emphasize the applicability of the in situ DNA hybridization as a tool in analysis of the specific HPV DNA sequences in routine biopsies of these lesions. (**Korean J Pathol 1992; 25: 436~444**)

Key Words: In situ DNA hybridization-HPV types-CIN and Invasive SCC

접 수: 1992년 3월 16일, 게재승인: 1992년 6월 19일
주 소: 서울시 성동구 행당동 산 17번지, 우편번호 133-792
한양대학교 의과대학 병리학교실, 박 찬 금
본 논문은 1989년도 한양대학병원 임상교수 연구비에 의
함.

서 론

Human papillomavirus(HPV)는 약 8,000쌍의 염기로 구성된 이중 나선 DNA 분자를 갖고있는 20

면체의 과립으로 구성되어 있으며, 이는 protein capsid에 의해 둘러싸여져 있다^{1,2)}. 바이러스의 유형은 감염시키는 종(species)과 핵산의 동일성 정도에 따라 분류되는데 현재까지 60여 종류가 알려져 있으며, 그중 여성 생식기에 경도의 이형성증을 유발시키는 HPV의 유형은 약 20여종에 달한다³⁾.

HPV는 일단 감염이 되면 세포의 genome에 융합되지 않은 상태로 핵안에서 왕성하게 복제되어(episomal form of infection)형태학적으로 경도의 이형성증, 공동 세포 이형성증(koilocytotic atypia) 및 극세포증(acanthosis)을 야기시킨다³⁾. 대부분의 HPV에 의해 감염된 병소는 사마귀의 형태를 취하나 그 중의 어떤 HPV 유형은 자궁경부, 질 및 외음부에 발생하는 악성종양과 밀접한 관계가 있다²⁾. 여러 연구에 의하면 콘딜로마와 경도의 이형성증은 HPV 6 또는 HPV 11에 의하여 발생되나 이와 대조적으로 HPV 16과 HPV 18, 그리고 최근에 발견된 유형인 HPV 31, HPV 33 및 HPV 35는 고도의 이형성증 및 침윤성 편평세포 암종에서 HPV 6과 HPV 11보다도 더 흔히 발견된다⁴⁻¹⁸⁾. 이와같이 자궁경부의 여러 병변에 있어서 HPV 유형이 차이가 있는 것으로 보아 자궁경부에 감염되는 HPV DNA의 유형을 분석해 보는 것은 자궁경부 편평세포 암종의 생물학적 성상 및 예후를 규명하는데 매우 중요한 역할을 하리라고 생각된다. 그러나 현재 HPV 감염 유무를 정확하게 인지하는 방법은 한정되어 있다. 그 이유는 시험관내에서 HPV가 배양되지 않을 뿐만 아니라 HPV 감염시 관찰되는 세포학적 및 조직학적인 특징적인 소견은 HPV 감염을 암시하는 간접적인 증거만 제공하기 때문이다. HPV 항원에 대한 면역조직화학적 염색은 직접적으로 HPV 항원의 존재 유무와 분포 양상을 알 수 있으나 그 민감도가 낮기 때문에 모든 병소에서 특히 고도의 자궁 경부 상피내 암종이나 침윤성 편평상피암종에서 HPV를 인지하는 것은 곤란하다⁴⁾. 더욱이 각각의 HPV 유형에 특이한 항체가 이용 가능하지 않았으므로 이 방법으로 HPV의 유형을 정확히 규명할 수 없는 것이 단점이었다. 과거 수년간 재조합형 DNA 기술을 이용한 기술들이 발달되어 특이한 HPV DNA와 RNA 서열의 인지가 가능하게 되었다. Filter hybridization 기법인 slot blot과 Southern blot hybridization은 HPV DNA를 인지하는 민감도가 매우 높아 HPV DNA 약 0.1 pg까지 인지가 가능한데 이는 100개의 세포당 1개의 바이러스 DNA에 해당되는 양이다^{19,20)}. 그러나 조직안에서 바이러스 핵산이 어디에 존재하는지 세포내 정확한 위치를 알기 어려운 점이 단점이다. 최근에 이러한 문제를 극복하기 위하여 in situ nucleic acid hybridization이 개발되어 세포내 DNA 표지가 발현되는 위치를 정확하게 알 수 있게 되었을 뿐만 아니라 감염된 조직내에서의 HPV 유형의 감별이 가능하다^{16-18,21-25)}. In situ

hybridization은 생식기 병소에 작용하였을 때 매우 민감하고 특이한 방법이다. 자궁경부의 콘딜로마성 병소에서 HPV를 인지하고 그 유형을 명확히 규명하는 것은 자궁경부 생식기 병소의 그 생물학적 특성 및 예후를 규명하는데 매우 중요하다. 그러나 아직 우리나라에서는 in situ hybridization을 이용한 자궁경부의 콘딜로마성 병소에 관한 연구가 드물다²⁶⁾. 그러므로 저자들은 HPV 6/11 및 HPV 16/18을 함유하는 바이오틴이 부착된 HPV DNA 표지를 자궁경부 암종에 동반된 콘딜로마성 병변에 있어서의 HPV의 유형과 암종과의 상관관계를 규명하기 위하여 본 실험을 시도하였다.

재료 및 방법

연구대상은 1984년 1월부터 1989년 8월 31일까지 본 병원 조직병리과에서 진단된 콘딜로마성 병변이 동반된 자궁경부의 침윤성 및 상피내 암종과 각종 이형성증 총 138예 중 36예 즉 침천형 콘딜로마 5예, 평탄형 콘딜로마 5예, 경도 이형성증 7예, 중등도 이형성증 5예, 고도 이형성증 4예, 상피내 암종 5예 침윤성 편평 상피암종 5예의 파라핀 포매 조직을 이용하였다(Table 1). H & E 염색 표본을 재 검토한 후 조직학적으로 공동세포 이형성증이 전형적으로 잘 관찰되는 예를 선택하였다.

In situ hybridization

생검 조직은 포르말린에 고정 후 파라핀에 포매된 자궁경부 조직을 4~6 um 두께로 잘라 접착제인 aminopropyltriethoxysilane으로 전처리한 슬라이드에 부착시켰다. 탈파라핀 과정을 거쳐 바이오틴이 부착된 HPV DNA 표지(probe)가 세포내 핵산에 쉽게 접근할 수 있도록 proteinase K로 소화시켰다. 내인성 peroxidase의 활성성을 제거하기 위하여 quench 시약에 침수시킨 후 탈수하였다. 이러한 전처리 과정 후 HPV 6/11형 및 HPV 16/18형을 함유한 바이오틴이 부착된 DNA 표지(Pathogene DNA probe assay for identification of HPV, Enzo diagnostics)를 이용하여 Kit에서 정해진 방법대로 in situ hybridization을 시행하였다²²⁻²³⁾. Hybridization을 위하여 HPV 6/11형과 HPV 16/18형 DNA 표지 시약을 유리 슬라이드의 각각의 well에 떨어뜨린 후 덮개 유리를 덮고 이중 가닥의 HPV DNA 표지와 표적 DNA가 단일 가닥 DNA로 변성되게 92~94°C의 가열판위에서 8~10분간 가열하였다. 37°C 부란기에 슬라이드를 옮겨 20~30분 후 슬라이드를 편평한 곳에 옮겨 덮개 유리를 제거하였다. 다시 슬라이드를 37°C 부란기속에서 넣고 0.5 ml의 post hybridization 시약을 떨어뜨린 후 10분간 부란시켰다.

HPV DNA 표지와 검사 조직내의 DNA 사이의 hybridization 유무를 알기 위해 검출시약(streptavidin-

Table 1. In situ hybridization results in the cervical condylomatous lesions

	No. of cases	No. of positive cases(%)		
		HPV 6/11	HPV 16/18	Total
Ccndyloma acuminatum	5	5(100.0)	0	5
Flat condyloma	5	1(20.0)	0	1
Flat condyloma with				
Mild dysplasia	7	1(14.3)	1(14.3)	2
Moderate	5	0	2(40.0)	2
Severe	4	0	2(50.0)	2
In situ SCC	5	0	0	
Invasive	5	0	2(40.0)	2
Total	36	7(19.0)	7(19.0)	14(39.0)

HPV: Human Papillomavirus
 SCC: Squamous Cell Carcinoma



Fig. 1. Exophytic condyloma: Many red brown stained nuclei are seen in the superficial layer.(In situ hybridization with HPV 6/11 biotin-labelled probe).

biotinylated horseradish peroxidase complex)을 떨어뜨려 37°C에서 15분간 부란하여 hybridization된 HPV DNA표지에 결합되도록한 후 발색제인 chromogen-substrate reagent(2% 3-amino-9-ethylcarbazole)를 떨어뜨려 역시 37°C에서 15분간 부란하였다. Hematoxylin으로 염색 후 암모니아수로 수세한 후 glycerin gelatin용액으로 봉합하였다. 광학현미경하에서 검경 후 핵내에 적갈색으로 염색되는 것을 양성으로 판정하였다. 대조군으로써 Kit에 포함되어 있는 HPV 6/11형의 조직대조 슬라이드와 HPV 16표지 대조 슬라이드를 사용하였다.

각 범소에서 HPV DNA 표지가 발현되는 빈도 및 그 세포내 위치를 관찰하였으며, 각각의 HPV DNA 표지의 발현정도를 보기 위하여 200배 광학현미경하에서 양성으로 인식되는 세포가 5개 이하일때를 경도(+), 5~10개 일대를 중등도(-+), 10개 이상일때를 고도(+++)로 결정하여 분석하였다.

결 과

In situ hybridization의 결과는 Table 1에 요약되어 있다. 실험대상으로 한 36예의 콘딜로마성 병변

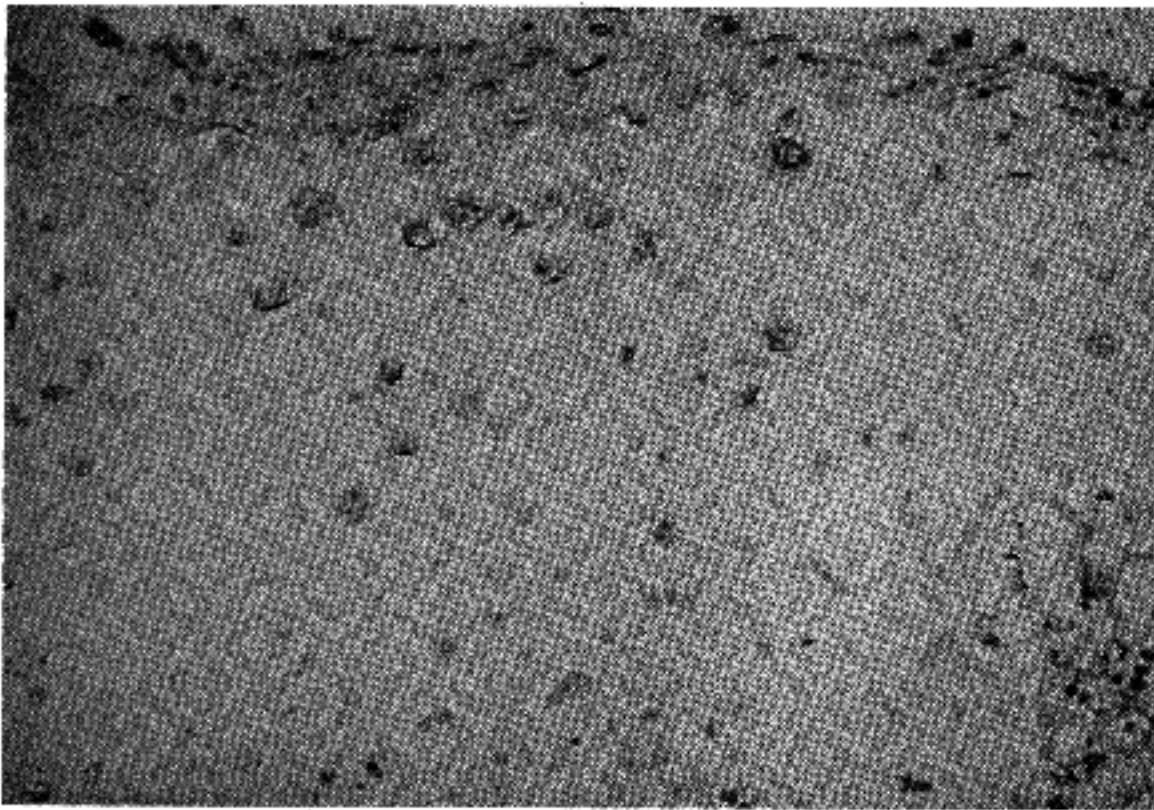


Fig. 2. Flat condyloma: There are evenly distributed staining throughout the upper half of the epithelium.(In situ hybridization with HPV 6/11 biotin-labelled probe).

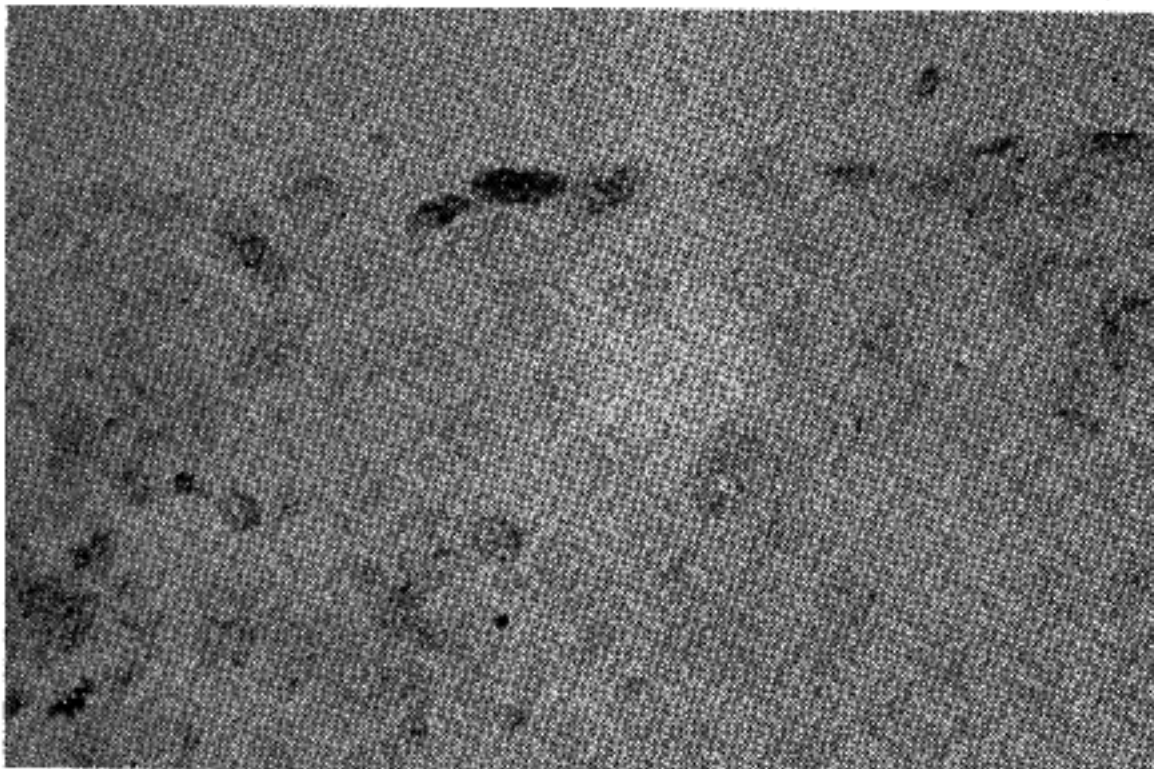


Fig. 3. Moderate dysplasia: Several koilocytotic cell nuclei close to the surface of the epithelium show hybridization signal.(In situ hybridization with HPV 16/18 biotin-labelled probe).

이 동반된 자궁 경부의 침윤성 및 상피내 암종과 각종 이형성증 14예(39.0%)에서 HPV DNA 표지에 양성반응을 보였는데, HPV 6/11에 7예(19.0%), HPV 16/18에 7예(19.0%)가 각각 양성반응을 보였다. HPV 6/11에 양성반응을 보인 7예는 외향형 콘딜로마 5예 중 5예(100%), 평탄형 콘딜로마 5예 중 1예(20%), 경도의 이형성증 7예 중 1예(14.3%)였다. HPV 16/18에 양성반응을 보인 7예는 경도 이형성증 7예 중 1예(14.3%), 중등도 이형성증 5예 중 2예(40%),

고도 이형성증 4예 중 2예(50%), 침윤성 편평세포 암종 5예 중 2예(40%)였다. 각종 콘딜로마성 병소에 출현하는 HPV의 유형을 보면 양성 콘딜로마성 병변(외향형 및 평탄형 콘딜로마)에서는 6예 모두 HPV 6/11에 양성 반응을 보였다(Fig. 1 & 2).

각종 이형성증과 동반된 콘딜로마성 병소를 보면 경도의 이형성증에서는 HPV DNA 표지에 양성반응을 보인 2예 중 HPV 6/11, HPV 6/18에 각 1예(50%)가 일색되었다. 중등도 및 고도의 이형성증과 침윤성

Table 2. Grades of HPV DNA probe positivities in the cervical condylomatous lesions

	No. of cases tested	HPV 6/11			HPV 16/18			No. of positive cases
		+	++	+++	+	++	+++	
Condyloma acuminatum	5	1	1	3				5
Flat condyloma	5			1				1
Flat condyloma with								
Mild dysplasia	7		1		1			2
Moderate	5					1	1	2
Severe	4				2			2
In situ SCC	5							0
Invasive	5				2			2
Total	36	1	2	4	5	1	1	14

No. of positively stained cells:

+: <5/200HPF

++: 5~10/200 HPF

+++ : >10/200HPF

암종에서 HPV DNA표지에 양성 반응을 보인 예는 모두 4예로서 HPV 16/18에만 양성 반응을 보였다 (Fig. 3). 자궁경부의 각종 콘딜로마성 병변과 HPV DNA표지에 양성 반응을 보이는 세포의 출현 빈도와 의 상관관계를 보기위하여 그 정도를 경도, 중등도, 고도의 세 등급으로 구분하여 관찰하였다(Table 2).

이형성증을 동반하지 않은 양성 콘딜로마성 병변에서는 대부분 고도로 염색되었는데 즉 외향형 콘딜로마는 양성반응을 보인 5예중 3예(60%)에서 고도(Fig. 1), 1예(20%)에서 중등도, 그리고 1예(20%)에서 경도로, 그리고 평탄형 콘딜로마는 양성 반응을 보인 1예중 1예에서 HPV 6/11에 고도(Fig. 2)로 염색되었다. 각종 이형성증과 동반된 콘딜로마성 병소를 보면 경도의 이형성증에서는 양성 반응을 보인 2예중 1예는 HPV 6/11에 중등도, 1예는 HPV 16/18에 경도로 염색되었다. 중등도의 이형성증에서는 양성 반응을 보인 2예중 1예는 중등도(Fig. 3)로, 1예(50%)는 고도로 HPV 16/18에 양성 반응을 보였다. 반면 고도의 이형성증 및 상피내 암종 그리고 침윤성 암종에서는 HPV DNA 표지에 양성반응을 보이는 세포의 수가 현저히 줄어들어 HPV 16/18에 14예중 4예(29%)에서 양성반응을 보였고, 4예 모두 경도로 염색되었다.

HPV DNA 표지에 양성으로 염색되는 세포내 위치를 보면, 외향형 콘딜로마는 대부분이 상피의 표층이나 중간층에 있는 공동세포의 핵이나 과각화 세포의 핵에 적갈색으로 염색되었다. 평탄형 콘딜로마 및 각종 이형성증과 동반된 콘딜로마성 병소에서도 이형성증 세포의 상부나 그 인접부위에 있는 공동세포의 핵에서만 양성반응을 보였으며, 이형성증을 보이는 기저 세포층에서는 양성반응은 관찰되지 않았다. 상피내 암

종 및 침윤성 편평 상피 암종에서 종양 세포에서의 양성반응은 관찰되지 않았으며, 그 주변에서 관찰되는 공동 세포의 핵에서 양성반응을 보였다. 실험 대상 모두에서 HPV 6/11과 HPV 16/18에 동시에 양성 반응을 보이는 예는 없었다.

고 찰

저자들은 포르말린에 고정 후 파라핀에 포매된 자궁경부 조직에 바이오틴을 부착한 HPV DNA 표지를 이용하여 본 연구를 실시한 결과 자궁 경부에 감염되는 HPV 유형의 분포 양상 및 양성 반응을 보이는 세포의 조직내 위치를 규명할 수 있었다. 양성 콘딜로마성 병변에서는 모두 HPV 6/11에 양성반응을 보인 반면 HPV 16/18에는 모두 음성 반응을 보여 이는 HPV 16/18이 양성 콘딜로마성 병변 및 경도의 이형성증에서는 감염 빈도가 매우 낮다는 이전의 보고²⁷⁾와 일치하였다. 자궁 경부의 HPV 감염은 일종의 성병으로 여러 형태학적인 그리고 분자 바이러스성 연구에 의하면 여성 하부 생식기에 감염되는 HPV의 유형은 뚜렷한 분포 양상의 차이가 있다고 알려져 있다³⁾. 양성 콘딜로마성 병변이나 침윤성 편평세포 암종에 감염되는 HPV의 유형은 비교적 한정되어 있는 바 HPV 6과 HPV 11은 외향형 콘딜로마의 약 70~90%를 감염시킨다고 하며^{9,15,25)} 침윤성 편평세포 암종에서는 HPV 16이 약 50%^{28,29)}, HPV 18이 약 20%²⁷⁾ 그 이외 HPV 31이 약 5%를 감염시킨다고 보고되어 있다³⁾. 반면에 자궁 경부 상피내 종양에 감염되는 HPV의 유형은 매우 다양하여 약 20여종에 달한다³⁾. 이러한 HPV 유형의 감염 양상은 상피내 이형성증의 정도가 심해질수록 HPV 16의 비율이 증가하는 경향을

보여 경도의 이형성증에서는 20%, 중등도의 이형성증에서는 40%, 고도의 이형성증에서는 그 감염 빈도가 66%로 증가하여 중등도 및 고도의 이형성증에서 HPV 16의 감염율은 침윤성 암종에서 발견되는 빈도와 거의 일치하였다³⁰. 이와 대조적으로 HPV 6과 HPV 11은 상피내 이형성증 정도가 심해질수록 그 양성율은 떨어져, 경도의 이형성증에서는 약 15%를 차지하나 중등도 이형성증에서는 더욱 그 빈도가 떨어지며, 고도의 이형성증 및 침윤성 편평세포 암종에서는 매우 드물게 발견된다³¹. HPV 18도 침윤성 편평세포 암종에서는 약 20%가 발견되나 모든 상피내 병소에서는 약 2~3%만 발견된다²⁷. HPV의 생활사는 편평 세포의 분화와 밀접한 관계가 있다²⁹. 맨처음 기저 세포층에서 감염이 시작되며, 일단 감염이 되면 바이러스는 잠재 감염(latent infection)의 상태로 있거나, 왕성하게 핵 안에서 증식하여 감염성 바이러스를 생산해낸다³². HPV 입자는 전자현미경이나 HPV genome에 특이적인 면역조직 화학적 방법에 의해 입증할 수 있는데¹¹ 이는 "late" HPV 단백을 인지하는 것이며, non-productive HPV DNA는 입증하지 못한다³³. Viral capsid protein은 주기적으로 발현되기 때문에 어떤 주어진 시간에 항원은 30~50%만 발현되므로³⁴ 면역 조직화학적 방법에 의하여 약 40~60%의 양성율을 보인다^{13,14,27,35}. 또한 이러한 면역조직화학적 신호(immunocytochemical signal)와 virion은 대개 가장 현저하게 표재 세포에서만 표현되며, 기저 세포에서는 발현되지 않는다^{3,36}. 그러나 침윤성 편평 세포 암종에서 매우 드물게 몇몇 세포가 양성반응을 보였다고 하였다³⁷. 최근에 재조합형 DNA에 대한 영역의 발달과 함께 병리 검사물에 DNA 표지를 이용하여 특이한 핵산의 서열을 인지함으로써 질병 진단에 이용하는 것이 가능하게 되었다.

In situ hybridization의 기본 원리는 검사물에 존재하는 표적 DNA 또는 RNA의 상보서열에 단일가닥 DNA표지가 수소 결합에 의해 나타나는 신호를 인지하는 것으로서 이는 방사능이 부착된 표지와 부착되지 않은 표지를 이용하고 있다. 맨처음에는 고정되지 않은 신선한 조직이나 동결 절편에 이용할 수 있도록 개발되었으나, 지금은 포르말린에 고정하여, 파라핀에 포매된 조직에도 시행할 수 있기 때문에 후향적 연구가 가능하고 시간을 절약할 수 있고 슬라이드를 장기간 보존할 수 있는 장점이 있다. 나아가서 면역 조직화학적 방법과는 대조적으로 조직이나 세포내 존재하는 HPV유형의 구별이 가능하고 충분한 수의 복제된 유전인자만 있거나 전사된 messenger RNA만 있으면, 양성 신호를 나타낼 수 있기 때문에 혈청학적 또는 면역 조직 화학적 방법에 인지될 수 없는 잠재감염 상태의 바이러스의 DNA 또는 RNA의 인지가 가능하다³⁵. 그러나 Southern blot hybridization이나 slot blot hybridization 보다는 그 민감도가 떨어져

는 것으로 되어 있는데 상기 방법으로는 평균 세포 100개당 1개의 바이러스 DNA만 있으면 바이러스 서열을 인지할 수 있는 반면 DNA 표지를 이용한 in situ hybridization인 경우에는 바이오틴 또는 35S를 부착시킨 표지를 이용하여 세포당 20~50 viral copies가 있어야 hybridization신호를 인지할 수 있다^{18,39-41}. 즉 이론적으로 HPV DNA가 균등하게 분포되어 있거나, 조직 절편에 세포당 20~50 copy 이상을 포함하는 세포가 포함되어 있지 않으면, in situ hybridization시 음성반응을 나타낼 수 있다. 그러므로 경도 및 중등도의 상피내 암종에서 대개 바이러스의 DNA는 생검 조직의 표재 세포에서 관찰되며, 방기저 또는 기저 세포에는 바이러스 핵산 서열의 양이 적을 뿐만 아니라 더욱이 고도의 상피내 종양 및 편평 세포 암종 세포에서는 존재하는 바이러스 DNA의 양이 적기 때문에 이들 세포에 음성반응을 나타낼 수가 있다.

본 연구에서 HPV DNA 표지에 양성으로 염색되는 세포는 주로 상피의 상층에 있는 공동 세포나 각화 세포의 핵에 진한 적갈색으로 염색되었으며, 기저 세포 및 이형성 세포, 그리고 종양 세포에서는 염색되지 않았다. 또한 각종 콘딜로마성 병변에서 HPV DNA 표지에 양성으로 보이는 세포 수의 많고 적음에 따라 그 정도를 구분하여 본 결과 양성 콘딜로마성 병소에서는 대부분이 고도의 양성 반응을 보였으며, 염색되는 정도도 강하였으나, 고도의 이형성증 및 편평 상피 암종에서는 양성 반응을 보이는 세포의 수도 매우 적었을 뿐만 아니라 염색되는 정도도 약하여 상피내 이형성증의 정도가 심해질수록 세포당 존재하는 바이러스 DNA의 양이 매우 적음을 알 수 있었다.

HPV 6과 HPV 11은 관계가 밀접하여 25%의 교차반응을 보일 수 있으며 뉴클레오티드 상동성은 약 82%이다. HPV형종 16과 18은 더욱더 유사하여 약 35%에서 교차반응을 보이고 뉴클레오티드 상동성은 9% 정도이다⁴². 같은 환자가 두가지 이상의 HPV 표지에 동시에 양성으로 발현될 수 있는데 이등²⁶의 결과와는 달리 본 연구에서는 두 종류의 표지에 양성으로 발현된 경우는 한 예도 없었다. 또한 HPV DNA 표지에 14예(39.0%)에서 양성 반응을 보였는데 본 연구에 사용한 HPV DNA 표지의 유형이 한정되어 있기 때문에 다른형의 감염을 배제할 수 없어 in situ hybridization의 민감도는 정확히 판정하기 어려우며 큰 조직인 경우에는 의심되는 일부분만을 검사하므로 한계점이 있다고 생각하였다.

이상과 같은 결과를 요약하여 볼때 HPV 6/11은 양성 콘딜로마성 병변에 그리고 HPV 16/18은 고도의 이형성증 및 침윤성 암종과 동반된 콘딜로마성 병변에서 주로 양성 반응을 나타낸 것으로 보아 HPV 16/18은 자궁암 발생과 밀접한 관계가 있는 것으로 생각되며, 조직학적으로 HPV감염의 소견이 관찰될때

in situ hybridization에 의해 감염된 HPV의 유형을 규명하는 것은 자궁암 조기 예방에 큰 기여를 하리라 생각된다.

결 론

In situ hybridization에 의한 HPV DNA표지 (type 6/11, 16/18)를 이용하여 자궁경부의 상피내 종양 및 침윤성 편평 상피 암종에 동반된 콘딜로마성 병변에 있어서의 HPV의 유형을 밝히고 어떤 유형이 고도의 자궁 경부 상피내 종양 및 침윤성 암종과 관련이 있는지 그 상관 관계를 규명하기 위하여 본 실험을 시도하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 총 36예의 자궁경부의 콘딜로마성 병변 중 14예 (39%)에서 HPV DNA표지에 양성반응을 보였는데 이 중 HPV 6/11이 7예(19.0%), HPV 16/18이 7예 (19.0%)였다.

2) 외향형 콘딜로마 5예중 5예(100%), 평탄형 콘딜로마 5예중 1예(20%), 그리고 경도 이형성증 7예중 1예(14.3%)에서 HPV 6/11에 양성으로 염색되었다.

3) HPV 16/18은 경도 이형성증 7예중 1예(14.3%), 중등도 이형성증 5예중 2예(40%), 고도 이형성증 4예중 2예(50%), 침윤성 편평 세포 암종 5예중 2예 (40%)에서 양성으로 염색되었다.

4) HPV DNA 표지에 양성으로 염색되는 세포는 주로 상피의 표재에 있는 공동 세포나 각화 세포의 핵에 진한 적갈색으로 염색되었으며, 정상 세포 및 이형성증세포, 그리고 종양 세포에서는 염색되지 않았다.

5) HPV DNA 표지에 양성반응을 보이는 세포의 수가 외향형 콘딜로마에서는 매우 많았으며, 이형증이 심해질수록 출현 빈도가 감소되어 고도의 이형성증이나 침윤성 암종에서는 그 수가 매우 적었다.

이상과 같은 결과를 요약하여 볼때 HPV 6/11은 양성 콘딜로마성 병변에, 그리고 HPV 16/18은 고도의 이형성증 및 침윤성 암종과 동반된 콘딜로마성 병변에서 주로 양성 반응을 나타내어 HPV 16/18이 자궁 경부 편평 세포 암종 발생과 밀접한 관련이 있음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

- 1) Pfister H. *Biology and biochemistry of papillomaviruses. Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1983; 99: 111-81.
- 2) Gissman L. *Papillomaviruses and their association with cancer in animals and in man. Cancer Surv* 1984; 3: 161-81.
- 3) Ambros RA, Kurman RJ. *Current concepts in the relationship of Human Papillomavirus infection to the pathogenesis and classification of precancerous*

- squamous lesions of the uterine cervix. Sem Diagn Pathol* 1990; 7: 158-72.
- 4) Jenson AB, Kurman RJ, Lancaster WD. *Human papillomaviruses. In: Textbook of Human Virology, Belesche R. ed. Littleton MA, PSG Publishing Co, 1984: 951-68.*
- 5) Durst M, Clasman L, Ikenberg H, zur Hausen H A. *Papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 3812-5.
- 6) Boshart M, Gissman L, Ikenberg H, Kleinheinz A, Scheurlen W, zur Hausen HA. *New type of papillomavirus DNA and its presence in genital cancer biopsies and in cell lines derived from cervical cancer. Embo J* 1984; 3: 1151-7.
- 7) Lorincz AT, Lancaster WD, Temple GF. *Cloning and characterization of the DNA of a new human papillomavirus from a woman with dysplasia of the uterine cervix. J Virol* 1986; 58: 225-9.
- 8) Boaudenon S, Kremsdorf D, Croissant O, Jablonska S, Wain-Hobson S, Orth GA. *Novel type of human papillomavirus associated with genital neoplasia. Nature* 1986; 321: 246-9.
- 9) Reid R, Greenberg M, Jenson AB, Husain M, Willett J, Daoud Y, Temple G, Stanhope CR, Sherman AI, Phibbs GD, Lorincz, AT: *Sexually transmitted papillomavirus infections: The anatomic distribution and pathological grade of neoplastic lesions associated with different viral types. Am J Obstet Gynecol* 1987; 156: 212-22.
- 10) Richart RM, Barron BA. *Screening strategies for cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia. Cancer* 1981; 47: 1176-81.
- 11) Ferenczy A, Braun L, Shah KV. *Human papillomavirus(HPV) in condylomatous lesions of cervix: a comparative ultrastructural and immunohistochemical study. Am J Surg Pathol* 1981; 5: 661-70.
- 12) Fu YS, Braun L, Shah KV, Lawrence WD, Robboy SJ. *Histologic, nuclear DNA and human papillomavirus studies of cervical condylomas. Cancer* 1983; 52: 1705-11.
- 13) Kurman RJ, Shah KH, Lancaster WD, Jenson AB. *Immunoperoxidase localization of papillomavirus antigens in cervical dysplasia and vulvar condyloma. Am J Obstet Gynecol* 1981; 140: 931-5.
- 14) Woodruff JD, Braun L, Cavalieri R, Gupta P, Pass F, Shah KV. *Immunologic identification of papillomavirus antigen in condyloma tissues from the female genital tract. Obstet Gynecol* 1980; 56: 727-32.
- 15) Gissmann L, Wolnik L, Ikenberg H, Koldovsky U,

- Schnurch HG, ZurHausen H. *Human papillomavirus types 6 and 11 DNA sequences in genital and laryngeal papillomas and in some cervical cancers. Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 560-3.
- 16) Beckman AM, Myerson D, Daling JR, Kiviat N, Fenoglio CM, McDougall JK. *Detection of HPV in condylomas by in situ hybridization with biotinylated probes. J Med Virol* 1985; 16: 265-273.
- 17) Gupta J, Gendelman H, Nagashfar Z, Gupta P, Rosenschein N, Sawada E, Woodruff JD, Shah K. *Specific identification of human papillomavirus type in cervical smears and paraffin sections by in situ hybridization with radiolabelled probes: A preliminary communication. Int J gynecol Pathol* 1985; 4: 211-3.
- 18) Stoler MH, Broker TR. *In situ hybridization detection of human papillomavirus DNA and messenger RNA in genital condylomas and a cervical carcinoma. Hum Pathol* 1986; 17: 1250-8.
- 19) Lorinz AT: *Detection of human papillomavirus infection by nucleic acid hybridization. Obstet. Gynecol Clin N Am* 1987; 14: 451-69.
- 20) Ostrow RS, Zachow KR, Niimura M, Okagaki T, Muller S, Bender M, Faras AJ. *Detection of papillomavirus DNA in human semen. Science* 1986; 231: 731-3.
- 21) Syrjanen SM, von Krogh G, Syrjanen KJ. *Detection of human papillomavirus DNA in anogenital condylomata in men using in situ DNA hybridization applied to paraffin sections. Genitourin Med* 1987; 63: 32-9.
- 22) Syrjanen S, Syrjanen K, Mantyjarvi R, Parkkinen, Vayrynen M, Saarikoski S, Castren O. *Human Papillomavirus(HPV) DNA sequences demonstrated by in situ DNA hybridization in serial paraffin embedded cervical biopsies. Arch Gynecol* 1986; 239: 39-48.
- 23) Brigati DJ, Myerson D, Leary JJ, Spalholz B, Travis SZ, Fong CKY, Hsiung GD, Ward DC. *Detection of viral genomes in cultured cells and paraffin embedded tissue sections using biotin-labeled hybridization probes. Virology* 1983; 126: 32-50.
- 24) Syrjanen S, Syrjanen K. *An improved in situ DNA hybridization protocol for detection of human papillomavirus(HPV) DNA sequences in paraffin embedded biopsies. J Virol Method* 1986; 14: 293-304.
- 25) Bergeron C, Ferenczy A, Shah KV, Naghashfar Z. *Multicentric human papillomavirus infections of the female genital tract. Correlation of viral types with abnormal mitotic figures. colposcopic presentation and location. Obstet Gynecol* 1987; 69: 736-42.
- 26) 이상숙, 김기권, 정재홍, 전승원, 손우익. 자궁상피내 암종 및 침윤성 편평 상피 암에서의 *In Situ Hybridization*에 의한 *Human Papillomavirus DNA*의 검색. 대한병리학회지 1990; 24: 16-26
- 27) Syrjanen KJ. *human papillomavirus(HPV) infections of the female genital tract and their associations with intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma. Pathol Annu* 186; 21: 53-89.
- 28) Fuchs PG, Girardi F, Pfister H. *Human papillomavirus DNA in normal, metaplastic, preneoplastic, and neoplastic epithelia of the cervix uteri. Int J Cancer* 1988; 41: 41-5.
- 29) Wilczynski SP, Bergen S, Walker J. *Human papillomaviruses and cervical cancer: Analysis of histologic features associated with different viral types. Hum Pathol* 1988; 19: 697-704.
- 30) Kurman RJ, Schiffman MH, Lancaster WD, Reid R, Jenson AB, Temple GF, Lorincz AT. *Analysis of individual human papillomavirus types in cervical neoplasia: A possible role for type 18 in rapid progression. Am J Obstet Gynecol* 1988; 159: 2393-6.
- 31) Willett GD, Kurman RJ, Reid R, Greenderg M, Jenson AB, Lorincz AT. *Correlation of the histologic appearance of intraepithelial neoplasia of the cervix with human papillomavirus types. Int J Gynecol Pathol* 1982; 1: 17-28.
- 32) Taichman LB, Reilly SS, LaPorta RF. *The role of keratinocyte differentiation in the expression of epitheliotropic viruses. J Invest Dermatol* 1983; 1: 137S-40S.
- 33) McDougal JK, Beckman AM, Kiviat NB. *Methods for diagnosing papillomavirus infection. In: Evered D, Clark S, eds. Papillomaviruses. Chichester: John Wiley, 1986: 86-104.*
- 34) Lack EE, Jenson AB, Smith HG, Healy GB, Pass F, Vawter GF. *Immunoperoxidase localization of papillomavirus in laryngeal papillomas. Intervirology* 14: 148-54, 1980.
- 35) 박찬금, 박문향, 이중달. *Human papillomavirus* 감염과 자궁경부 상피내 종양과의 상관관계에 대한 병리 조직학적 및 *immunoperoxidase* 연구. 대한병리학회지 1986; 20: 255-62.
- 36) Burns J, Graham AK, Frank C, Fleming KA, Evans MF, McGee JO'D. *Detection of low copy human papillomavirus DNA and mRNA in routine paraffin sections of cervix by non-isotopic in situ hybridization. J Clin Pathol.* 1987; 40: 858-64.
- 37) Hoepfner I, Loning I. *Human papillomavirus(HPV) infection of cervical lesions detected by immunohistochemistry and in situ hybridization. Cancer Detect Prev* 1986; 9: 293-301.
- 38) Grody WW, Cheng L, Lewin KJ. *In situ viral DNA hybridization in diagnostic surgical pathology. Hum Pathol* 1987; 18: 535-43.

- 39) Crum CP, Nagai N, Levine RU, Silverstein S. *In situ hybridization analysis of HPV 16 DNA sequences in early cervical neoplasia. Am J Pathol* 1986; 123: 174-82.
- 40) Crum CP, Nuovo G, Friedman D, Silverstein SJ. *A comparison of biotin and isotope labelled ribonucleic acid probes for in situ detection of HPV 16 ribonucleic acid in genital precancers. Lab Invest* 1988; 58: 354-9.
- 41) Walboomers JMM, Melchers WJG, Mullink H, Meijer CJLM, Struyk A, Quint WGJ, Noordaa J, Schegget J. *Sensitivity of in situ detection with biotinylated probes of human papillomavirus type 16 DNA in frozen tissue sections of squamous cell carcinoma of the cervix. Am J Pathol* 1983; 131: 587-94.
- 42) Pfister H. *Human papillomaviruses and genital cancer. Adv Cancer Res* 1987; 48: 113-47.
-