

Prevalence and Genotype of Human Papillomavirus Infection and Risk of Cervical Dysplasia among Asymptomatic Korean Women

Soie Chung¹, Sue Shin^{2,3}, Jong Hyun Yoon^{2,3}, Eun Youn Roh², Sung Jun Seoung²,
Gyoung Pyoung Kim², Eui-Chong Kim³

Department of Laboratory Medicine, ¹Seoul National University Hospital Healthcare System Gangnam Center, ²Seoul National University Boramae Hospital, ³Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: The persistence of infection by high-risk human papillomavirus (HPV) may lead to cervical cancer. Recently, the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology (ASCCP) announced that on-cogenic HPV screening and the PAP smear are the main methods of screening for cervical cancer. The goal of this study was to investigate the prevalence and genotyping of HPV, as well as the risk of cervical dysplasia.

Methods: HPV genotyping was conducted by a commercial chip assay. Cervical dysplasia was retrospectively reviewed using electronic medical records. The study participants were grouped together according to cervical dysplasia status: 'no dysplasia,' 'atypical squamous cells of undetermined significance (ASCUS),' 'low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL),' and 'high-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL).' The HPV prevalence and genotyping were analyzed according to the cervical dysplasia group.

Results: The overall prevalence of HPV was 17.6% (91 out of 518 patients). HPV-18 (2.3%), HPV-16 (2.1%), and HPV-58 (1.2%) were the three most frequent genotypes. The prevalence of HPV infection and the high-risk HPV positive rate was higher in the ASCUS, LSIL, and HSIL groups than in the no dysplasia group ($P < 0.05$).

Conclusion: In this study, basic data regarding the prevalence and distribution of HPV genotypes were obtained. Since HPV vaccination has been actively encouraged among Korean women, a change in the prevalence of HPV and cervical dysplasia is expected in the future. This study provided basic data describing the prevalence of HPV and its genotypes in the pre-HPV vaccination era. (*Ann Clin Microbiol* 2013;16:87-91)

Key Words: Cervical dysplasia, HPV genotyping, Human papilloma virus

INTRODUCTION

보건복지부의 암등록 통계에 따르면 2009년 자궁경부암은 발생률이 7.5%로 위암, 폐암, 간암, 대장암, 유방암에 이어 6번째로 발생률이 높은 암이다[1]. 기존의 여러 연구에서 자궁경부에 지속적인 인유두종바이러스(Human papillomavirus, HPV) 감염이 자궁경부암을 발생시킨다는 것이 밝혀졌고 현재 고위험 HPV 유전형의 존재유무와 더불어 자궁경부질세포진검사가 자궁경부암의 선별에 중요한 요소로 자리잡고 있다[2]. 또한 고위험 HPV 유전형 중에서 HPV-16과 HPV-18을 표적으로 하는 백신이 개발되어 식품의약품안전청에서 2007년 6월에 GardasilTM을 2008년에 CervarixTM를 사용 허가하였다. 이에 따라 대한부

인종양·콜로스코피학회에서는 백신 접종을 통한 HPV 감염 및 자궁경부암을 예방하는 것을 권고하고 있어[3] 향후 HPV 유병률 및 유전형 분포에 변화가 있을 것으로 판단된다.

기존의 한국 여성을 대상으로 한 연구에서는 부산 지역 대학 생, 의료기관에 방문한 여성 혹은 성매매 직업 여성에 대해 HPV 유병률에 대한 연구가 이루어진 바 있으나[4-6], 산부인과적 증상이 없는 한국 여성을 대상으로 한 HPV 유병률과 HPV 유전형의 분포에 대한 연구가 제한적이다. 2002년에 진행된 국내 대학병원 건강증진센터에서 HPV 유병률과 자궁경부세포진 검사이상과의 관련성을 연구가 있지만[7] 이 연구에서 HPV 유전형을 분석하지는 않았고 HPV가 성을 매개로 감염된다는 것을 고려할 때 성생활 변화에 따른 HPV 유병률 및 유전형에 대한 연구가 필요하다.

따라서 이번 연구에서는 산부인과적 증상이 없는 건강한 한국 여성을 대상으로 HPV 유병률 및 HPV 유전형의 분포와 자궁이형성증과의 연관성에 대해 알아보고 향후 자궁경부암백

Received 9 November, 2012, Revised 5 December, 2012

Accepted 7 December, 2012

Correspondence: Sue Shin, Department of Laboratory Medicine, Seoul National University Boramae Hospital, 39 Boramae-gil, Dongjak-gu, Seoul 156-707, Korea. (Tel) 82-2-870-2602, (Fax) 82-2-870-2630, (E-mail) jeannie@snu.ac.kr

신 집중 10년 후 연구의 기본자료를 구성하고자 하였다.

MATERIALS AND METHODS

1. 연구대상

2011년 1월 3일부터 2011년 12월 30일까지 서울특별시 보라매병원 건강증진센터에서 genotyping 검사가 의뢰된 환자들 중, 동시에 자궁경부질세포진검사를 시행하고 산부인과적 증상이 없는 518명의 환자를 대상으로 하였다. 연령 구성은 20-29세 4명(0.8%), 30-39세 61명(11.8%), 40-49세 130명(25.1%), 50-59세 182명(35.1%), 60-69세 121명(23.4%), 70-79세 19명(3.7%), 80-89세 1명(0.2%)이었다. 본 후향적의무기록연구는 보라매병원 의학연구윤리심의위원회의 승인을 받았다(26-2012-26).

2. 연구방법

1) HPV genotyping: 환자의 질 분비물을 Digene Cervical brush and specimen transport medium (Digene, Silver Spring, MD, USA)으로 채취하여 수송 후, HPV genotyping chip (Goodgene, Seoul, Korea)을 사용하여 제조사의 지시에 따라 검사를 시행하였다. 검사 원리를 간단히 설명하자면 다음과 같다. HPV E6, E7, L1 유전자와 사람 베타글로빈 유전자를 증폭시킨 후, 증폭된 유전자 산물을 DNA chip에 얹어 동소교잡반응을 시키면 HPV 유전자형이 형광으로 나타난다. 이 형광 신호를 스캐너로 읽으면 유전자형을 알 수 있다[8]. 이번 연구에서 진행한 검사 방법은 다음과 같다. L1, E6, E7 유전자와 사람 베타글로빈 유전자를 Cy5-dUTP (NEN Life Science Products, Inc., Boston, USA)로 표지한 후 10 μ L의 HPV 증폭산물과 10 μ L의 글로빈 산물을 95°C에서 2분간 외가닥의 DNA로 전환한 후 3분간 얼음 위에 식혔다. 검체를 50 μ L의 GG 동소교잡 버퍼 (Goodgene) 및 후 0.2% SDS와 혼합한 후 DNA chip에 얹었다. 동소교잡은 40°C에서 2시간까지 진행하였고, 3×SSPE에서 2분간 세척후 다시 1×SSPE로 2분간 세척하여 상온에서 건조시켰다. 동소교잡신호는 Affymetrix 428 Array Scanner (Affymetrix, Inc., Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 시각화시켰다. 고위험 HPV 유전형(HPV type 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68,69)과 저위험 HPV 유전형(HPV type 6, 11, 34, 40, 42, 43, 44)을 검출하고자 하였다[9].

2) Cervical dysplasia의 구분: 후향적으로 환자 의무기록 검토를 통하여 자궁경부질세포진검사에서 정상 및 염증 소견을 보인 경우를 'no dysplasia 군'으로 분류하고, 미확정 비정형 편평 상피 세포(atypical squamous cells of undetermined significance, ASCUS), 저등급편평상피내 병변(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL), 고등급편평상피내병변(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL)으로 판독된 경우는 각각 'ASCUS 군', 'LSIL 군', 'HSIL 군'으로 분류하였다.

3) 통계분석: 연령별 HPV 유병률의 비교에 Chi-square 법을 사용하였고 자궁경부질세포진검사 결과에 따른 HPV 유병률에 Fisher's exact test를 사용하였다. 통계 계산은 SPSS (Chicago, IL, USA) 18 버전을 사용하였다. 모든 유의 수준은 $P < 0.05$ 를 기준으로 하였다.

RESULTS

1. 대상환자의 특성

자궁경부질세포진검사 결과에 따른 대상군의 구성은 다음과 같았다. PAP smear 결과에서 정상 소견(no dysplasia)을 보인 예는 496예(95.8%), ASCUS 11예(2.1%), LSIL 7예(1.4%), HSIL 4예(0.8%)였다.

2. HPV 유병률 및 유전형 분포

전체 HPV 감염 유병률은 17.6% (91/518)였다. 각 HPV 유전형별 유병률을 분석하였을 때 HPV-18 (2.3%), HPV-16 (2.1%), HPV-58 (1.2%) 순으로 높았다(Fig. 1). HPV 양성 환자들 중 12.1% (11/91)에서는 여러 유전형의 중복감염이 있었다(HPV-16, HPV-43; HPV-16, HPV-35, HPV-68; HPV-16, HPV-39, HPV-58, HPV-66, HPV-40, HPV-43; HPV-18, HPV-33; HPV-18, HPV-35; HPV-18, HPV-39; HPV-18, HPV-40; HPV-18, HPV-58; HPV-18, HPV-68; HPV-35, HPV-58; HPV-35, HPV-66). 고위험(high risk) 유전형의 유병률은 8.5% (44/518)였으며, 저위험(low risk) 유전형의 유병률은 0.6% (3/518), 위험도가 밝혀지지 않은 기타 유전형(Other type)의 유병률은 8.5% (44/518)였다. 각 연령 군 내에서 HPV 유병률은 20-39세 27.7% (18/65), 40-49세 16.9% (22/130),

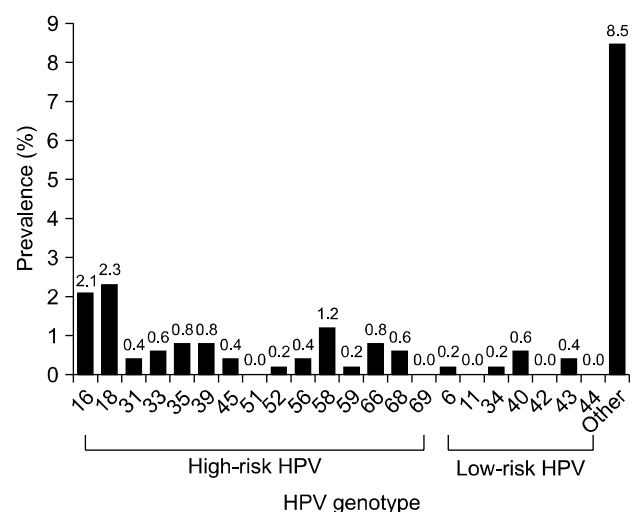


Fig. 1. Prevalence of human papilloma virus in each genotype. The number of HPV-infected patients in each genotype, including both single and multi-infection was divided by total number of patients (n=518). Abbreviation: HPV, human papilloma virus.

Table 1. Prevalence of human papilloma virus infection according to genotype and patients age group

Age group	HPV genotype group				PAP smear				
	HPV any	High-risk* HPV	Low-risk HPV	Other HPV	Negative	Normal	ASCUS	LSIL	HSIL
20-39 (n=65)	18 (27.7)	8 (12.3)	0 (0.0)	10 (15.4)	47 (72.3)	63 (96.9)	2 (3.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
40-49 (n=130)	22 (16.9)	13 (10.0)	1 (0.8)	8 (6.2)	108 (83.1)	122 (93.8)	3 (2.3)	3 (2.3)	2 (1.6)
50-59 (n=182)	29 (15.9)	9 (4.9)	1 (0.5)	19 (10.4)	153 (84.1)	176 (96.7)	3 (1.6)	2 (1.1)	1 (0.5)
≥60 (n=141)	22 (15.6)	14 (9.9)	1 (0.7)	7 (5.0)	119 (84.4)	135 (95.7)	3 (2.1)	2 (1.4)	1 (0.8)

The values are presented as number and percentage (%) in parentheses.

*High-risk HPV genotype includes both single high-risk genotype infection and multiple genotype infection including any high-risk genotype. Abbreviations: HPV, human papilloma virus; ASCUS, atypical squamous cells of undetermined significance; LSIL, low-grade squamous intraepithelial lesion; HSIL, high-grade squamous intraepithelial lesion; PAP smear, papanicolaou smear.

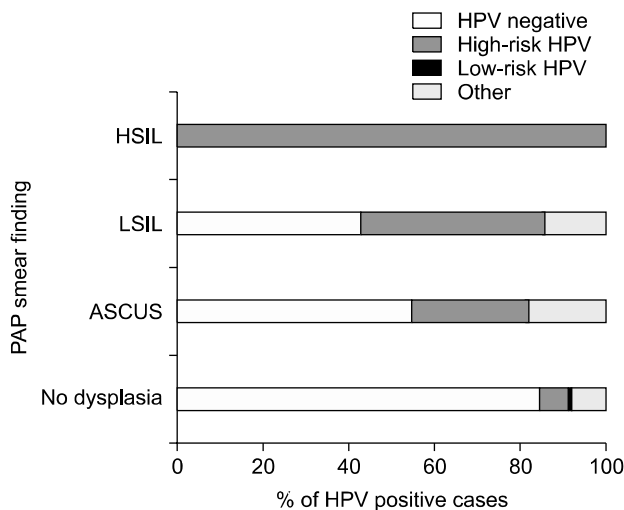


Fig. 2. Percent human papilloma virus positive cases according to PAP smear findings. The high-risk HPV genotypes are more prevalent among HSIL (4/4, 100.0%), LSIL (3/7, 42.9%), and ASCUS (3/11, 27.3%) patients than 'no dysplasia' patients (34/496, 6.9%) (no dysplasia vs. ASCUS, $P=0.008$; no dysplasia vs. LSIL, $P=0.003$; no dysplasia vs. HSIL, $P<0.001$). Abbreviation: HPV, human papilloma virus.

50-59세 15.9% (29/182), 60세 이상 15.6% (22/141)였다(Table 1). 각 연령 군 내에서 고위험 HPV 유병률은 20-39세 12.3% (8/65), 40-49세 10.0% (13/130), 50-59세 4.9% (9/182), 60세 이상 9.9% (14/141)였다. 39세 이하의 환자의 경우 40세 이상의 환자에 비해 HPV 유병률이 유의하게 높았다(27.7% vs. 16.1%, $P=0.022$). 고위험 HPV 유병률 또한 39세 이하의 환자의 경우 40세 이상의 환자에 비해 유의하게 높았다(12.3% vs. 7.8%, $P=0.037$).

3. 자궁경부질세포진검사와 HPV

자궁경부질세포진검사 결과에 따른 HPV genotyping 검사결과 HPV 감염 유병률은 'no dysplasia 군' (15.7%)에 비해 'ASCUS 군' (45.5%), 'LSIL 군' (57.1%), 'HSIL 군' (100.0%)에서 유의하게 높았다(no dysplasia vs. ASCUS, $P=0.008$; no dysplasia vs.

Table 2. The genotype-specific human papilloma virus prevalence stratified by PAP smear findings

	Normal (n=496)	ASCUS (n=11)	LSIL (n=7)	HSIL (n=4)
HPV any	78 (15.7)	5 (45.5)	4 (57.1)	4 (100.0)
HPV-16	10 (2.0) *	1 (9.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
HPV-18	9 (1.8) *	1 (9.1)	1 (14.3)	1 (25.0) *
HPV-31	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (25.0)
HPV-33	3 (0.6) *	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
HPV-35	3 (0.6) *	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (25.0) *
HPV-39	3 (0.6) *	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (25.0) *
HPV-45	1 (0.2)	1 (9.1)	0 (0.0)	0 (0.0)
HPV-52	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
HPV-56	1 (0.2)	0 (0.0)	1 (14.3)	0 (0.0)
HPV-58	4 (0.8) *	0 (0.0)	1 (14.3)	1 (25.0)
HPV-59	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
HPV-66	3 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (25.0) *
HPV-68	2 (0.4) *	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
HPV-6	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
HPV-34	1 (0.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
HPV-40	3 (0.6) *	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
HPV-43	2 (0.4) *	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Other	41 (8.3)	2 (18.2)	1 (14.3)	0 (0.0)

The values are presented as number and percentage (%) in parentheses.

* Total of 11 cases were known as multiple genotype infections (HPV-16, HPV-43 coinfection; HPV-16, HPV-35, and HPV-68 coinfection; HPV-16, HPV-39, HPV-58, HPV-66, HPV-40, and HPV-43 coinfection; HPV-18, HPV-33 coinfection; HPV-18, HPV-35 coinfection; HPV-18, HPV-39 coinfection; HPV-18, HPV-40 coinfection; HPV-18, HPV-58 coinfection; HPV-18, HPV-68 coinfection; HPV-35, HPV-58 coinfection; HPV-35, HPV-66 coinfection).

LSIL, $P=0.003$; no dysplasia vs. HSIL, $P<0.001$). 또한 고위험 유전형의 유병률이 'no dysplasia 군' (6.9%)에 비해 'ASCUS 군' (27.3%), 'LSIL 군' (42.9%), 'HSIL 군' (100.0%)에서 유의하게 높았다(no dysplasia vs. ASCUS, $P=0.008$; no dysplasia vs. LSIL, $P=0.003$; no dysplasia vs. HSIL, $P<0.001$) (Fig. 2). 자궁경부질세포진검사 결과의 유전자형 특이 분포는 Table 2에서 보는 바와 같았다.

DISCUSSION

이번 연구에서 HPV 유병률은 17.6%로 나타났다. 이는 성매매 직업 여성을 대상으로 한 연구[5]에서 제시한 40.7%의 유병률과 18개의 연구를 기반으로 메타분석을 한 기존 논문[4]의 유병률(23.9%)과 비교하였을 때 낮은 수치이나 이는 연구 대상의 특성에 따른 차이로 보인다. 그 근거로 다수의 남성성과 성관계를 가진 여성에서 HPV 유병률이 그렇지 않은 여성에 비해 최고 6.9배의 교차비를 보였다는 보고가 있다[6]. 또한 기존 연구[4]의 메타분석에 들어간 상당 수의 연구대상이 조직학적 검사상 다수의 HSIL 혹은 자궁경부암 환자를 포함하고 있기 때문에 산부인과적 증상이 없이 선별검사의 목적으로 건강건강 증진센터에 방문한 여성들을 대상으로 한 이번 연구에서 보다 유병률이 높았던 것으로 판단된다. 2002년에 건강증진센터 방문 여성을 대상으로 진행된 연구[7]에 따르면 유병률은 15.5%로 이번 연구와 유사하다고 볼 수 있다.

이번 연구의 자궁경부질세포진검사 결과 'no dysplasia'로 분류된 환자에서 HPV-16 (2.0%), HPV-18 (1.8%), HPV-58 (0.8%)의 세 유전형이 기존의 메타분석 연구[4]와 동일하게 가장 유병률이 높은 것으로 나타났다. 또한 2,308명의 성매매 직업 여성을 대상으로 유전형 분석을 한 연구에서도 HPV-16 (23.0%), HPV-58 (9.8%), HPV-18 (8.7%)의 순으로 세가지 유전형이 유병률이 높다는 결과가 보고되었다[5]. HPV-58은 외국에 비해 우리나라에서 자궁경부암이나 HSIL 환자에서 유병률이 높은 것으로 알려져 있다[2,4,10]. 따라서 상대적으로 HPV-58의 유병률이 높은 우리나라에서 향후 HPV-16, HPV-18을 표적으로 하는 백신 접종 후 발암기전에 HPV-58이 어떤 작용을 하는지 밝히는 것이 중요할 것이며 이를 토대로 지역에 따라서는 HPV-58을 표적으로 하는 백신을 개발할 필요도 있을 것이다.

이번 연구에서는 산부인과적 증상이 없는 건강한 한국 여성을 대상으로 HPV 유병률 및 HPV 유전자형의 분포와 자궁이형성증과의 연관성에 대한 자료를 구축하였다. 최근 자궁경부

암백신 접종이 적극적으로 권장되고 있어 향후 한국 여성에서 HPV와 자궁이형성증 유병률의 변화가 있을 것으로 생각되며 저자들은 이번 연구가 기본 자료로 역할을 할 것이라 판단된다.

REFERENCES

1. Statistics Korea. Incidence and mortality of cancer in Korea. http://www.index.go.kr/egams/stts/jsp/potal/stts/PO_STTS_IdxMain.jsp?idx_cd=2770&bbs=INDX_001 [Online] (last visited on 24 October 2012).
2. Clifford GM, Smith JS, Aguado T, Franceschi S. Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003;89:101-5.
3. Kim YT. Current status of cervical cancer and HPV infection in Korea. *J Gynecol Oncol* 2009;20:1-7.
4. Bae JH, Lee SJ, Kim CJ, Hur SY, Park YG, Lee WC, et al. Human papillomavirus (HPV) type distribution in Korean women: a meta-analysis. *J Microbiol Biotechnol* 2008;18:788-94.
5. Rhee JE, Shin MY, Kim CM, Kee HY, Chung JK, Min SK, et al. Prevalence of human papillomavirus infection and genotype distribution among high-risk Korean women for prospecting the strategy of vaccine development. *Virology* 2010;7:201.
6. Shin HR, Franceschi S, Vaccarella S, Roh JW, Ju YH, Oh JK, et al. Prevalence and determinants of genital infection with papillomavirus, in female and male university students in Busan, South Korea. *J Infect Dis* 2004;190:468-76.
7. Joo WD, Kim SH, Kim DY, Suh DS, Kim JH, Kim YM, et al. Prevalence of human papillomavirus infection in Korean women: risks of abnormal pap smear and cervical neoplasia. *Korean J Gynecol Oncol Colposc* 2004;15:309-16.
8. Kim KH, Yoon MS, Na YJ, Park CS, Oh MR, Moon WC. Development and evaluation of a highly sensitive human papillomavirus genotyping DNA chip. *Gynecol Oncol* 2006;100:38-43.
9. Muñoz N, Bosch FX, de Sanjosé S, Herrero R, Castellsagué X, Shah KV, et al; International Agency for Research on Cancer Multicenter Cervical Cancer Study Group. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003;348:518-27.
10. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, Muñoz N, Franceschi S. Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003;88:63-73.

=국문초록=

건강증진센터를 방문하는 여성의 인유두종바이러스의 유병률 및 유전형의 분포와 자궁이형성증과의 관계

¹서울대학교병원 강남센터, ²서울대학교 보라매병원 진단검사의학과, ³서울대학교 의과대학 검사의학교실

정소이¹, 신 수^{2,3}, 윤종현^{2,3}, 노은연², 성승준², 김경평², 김의종³

배경: 지속적인 인유두종 바이러스(Human papillomavirus, HPV)의 감염이 자궁경부암을 발생시킨다는 것이 밝혀졌고 현재 고위험 HPV 유전형의 존재유무와 자궁경부질세포진검사가 자궁경부암 선별에 중요한 요소로 자리잡고 있다. 이에 고위험 HPV를 표적으로 하는 백신이 개발되어 실제 임상에서 쓰이고 있다. 따라서 산부인과적 증상이 없는 여성에서 인유두종바이러스의 유병률 및 유전형의 분포, 자궁이형성증과의 관계를 알아보하고자 하였다.

방법: 환자의 질 분비물을 HPV genotyping chip을 이용하여 유전형의 분포를 분석하였다. 자궁이형성증은 후향적으로 환자의 의무기록 검토를 통하여 'no dysplasia 군', '미확정 비정형 편평 상피 세포(atypical squamous cells of undetermined significance, ASCUS) 군', '저등급편평상피내 병변(low-grade squamous intraepithelial lesion, LSIL) 군', '고등급편평상피내 병변(high-grade squamous intraepithelial lesion, HSIL) 군'으로 분류하여 HPV 유병률 및 유전형의 분포, 자궁이형성증과 HPV 감염과의 관계를 분석하였다.

결과: 전체 HPV 감염 유병률은 17.6% (91/518)였다. HPV-18 (2.3%), HPV-16 (2.1%), HPV-58 (1.2%) 순으로 높은 유전자형의 분포를 보였다. 자궁경부질세포진검사 결과에 따른 HPV genotyping 검사결과 HPV 감염 유병률 및 고위험 HPV 유전형의 유병률은 'no dysplasia 군'에 비해 'ASCUS 군', 'LSIL 군', 'HSIL 군'에서 유의하게 높았다($P < 0.05$).

결론: 이번 연구에서는 산부인과적 증상이 없는 건강한 한국 여성을 대상으로 HPV 유병률 및 HPV 유전자형의 분포와 자궁이형성증과의 연관성에 대한 자료를 구축하였다. 최근 자궁경부암백신 접종이 적극적으로 권장되고 있어 향후 한국 여성에서 HPV와 자궁이형성증 유병률의 변화가 있을 것으로 생각되며 저자들은 이 연구가 기본 자료로 역할을 할 것이라 판단된다. [Ann Clin Microbiol 2013;16:87-91]

교신저자 : 신 수, 156-707, 서울시 동작구 보라매길 39
서울특별시 보라매병원 진단검사의학과
Tel: 02-870-2602, Fax: 02-870-2630
E-mail: jeannie@snu.ac.kr