

기관지 세척액 검사를 이용한 MAGE 유전자 검사의 임상적 의의

서울의료원 ¹내과, ²의학 연구소

이승준¹, 윤명재¹, 이성태¹, 오혜진¹, 송숙희¹, 손 인¹, 김연정², 한경훈², 김선희², 김수현¹

The Clinical Implication of MAGE Gene Detection in Bronchial Washing Fluid in Routine Practice

Seung June Lee, M.D.¹, Myung Jae Yun, M.D.¹, Seong Tae Lee, M.D.¹, Hye Jin Oh, M.D.¹, Sook Hee Song, M.D.¹, In Sohn, M.D.¹, Yeon Jung Kim, M.D.², Kyung Hoon Han, M.D.², Sun Hee Kim, M.D.², Su Hyun Kim, M.D.¹

Departments of ¹Internal Medicine, ²Clinical Research Medical Institute, Seoul Medical Center, Seoul, Korea

Background: Melanoma antigen genes (MAGE) are expressed in many human malignant cells and are silent in normal tissues other than in testis and in placenta. But MAGE expression in benign lung diseases, such as pulmonary tuberculosis or cases with severe inflammation, needs further evaluation to overcome false-positive findings. We evaluated detection rates of the melanoma antigen genes (MAGE) RT-nested PCR in bronchoscopic washing samples from patients with benign lung disease, as well as in patients with malignancies.

Methods: Bronchial washing fluid from 122 patients was used for cytological examination and MAGE gene detection using RT-nested-PCR of common A1-6 mRNA. We compared the results from the RT-nested PCR and the pathologic or bacteriologic diagnosis. We also analyzed the expression rate and false positive rate of MAGE gene.

Results: Among 122 subjects, lung cancer was diagnosed in 23 patients and benign lung disease was diagnosed in 99 patients. In patients with lung cancer, the positive rate of MAGE expression was 47.8% (11/23) and in benign lung disease group, the expression rate was 14.1% (14/99). Among benign lung disease group, the expression rate of MAGE gene (25.0%) in patients with pulmonary tuberculosis (11/44) was especially high.

Conclusion: MAGE A1-6 RT-nested PCR of bronchial washing fluid can be used as a complementary method in lung cancer, but that test results in a high false positive rate in tuberculosis patients.

Key Words: Melanoma Antigen Gene; Bronchial Washing Fluid; Tuberculosis; Lung Neoplasms

서 론

폐암은 유럽과 미국 등에서 여전히 암 관련 사망의 가장 주요한 원인으로¹, 진단방법 및 항암치료와 방사선치료의 발전에도 불구하고 예후가 매우 나쁜 실정이다². 폐암의 조기발견을 위해 저선량 CT scan 등이 시도되고 있으나 선별검사로 확립되어 있지 못하며³, 객담 세포학 검사

의 민감도 또한 평균 0.645 (0.220~0.981)로 매우 낮아 종양세포에서만 비교적 특이적으로 발현되는 종양특이항원(tumor specific antigen)들에 대한 관심이 증가하고 있는데, 대표적인 예가 악성흑색종에서 처음 발견된 흑색종 항원유전자(melanoma antigen gene, MAGE)이다^{4,5}.

MAGE는 흑색종 뿐만 아니라 폐암, 두부경부암, 유방암, 식도암, 위암, 간암, 대장암, 자궁경부암, 난소암 등 대다수 암에서 표현되며, 정상조직에서는 남성의 생식기 세포 및 태반에서만 발현되는 매우 특이적인 유전자이다⁶. 기존에는 MAGE-A의 각 아형에 대한 시발체만을 이용하여 발현율이 낮았으나⁷⁻¹⁰, MAGE 아형 A1~A6까지의 8종 (MAGE A-1, -2, -3, -4a, -4b, -5a, -5b, -6)에 대한 공통 시발체(common primer)를 이용한 MAGE A1-A6 역전사

Address for correspondence: Su Hyun Kim, M.D.

Department of Internal Medicine, Seoul Medical Center,
171-1, Samsung 1-dong, Gangnam-gu, Seoul 135-740, Korea
Phone: 82-2-3430-0606, Fax: 82-2-3430-0438
E-mail: sammy7597@naver.com

Received: Aug. 22, 2010

Accepted: Oct. 12, 2010

이중 중합효소연쇄반응(reverse transcription-nested polymerase chain reaction, RT-nested PCR)기법으로, 폐절제술 혹은 경피적 세침흡인술과 경기관지 생검 조직 등을 이용한 폐암조직과 유도 객담검사 및 흉수 뿐 아니라 기관지 세척액 등의 다양한 호흡기 검체를 통한 MAGE의 민감도는 48~83%로 기존의 세포학 검사에 비하여 우수한 것으로 보고되었다^{4,11-16}. 그러나 검체 및 보고자에 따라 차이는 있지만 기관지 세척액의 경우 75%, 경피적 세침흡인술의 경우 58%까지도 특이도가 낮게 보고되기도 하였다^{11,15}. MAGE의 위양성은 특히 폐결핵에서 높게 나타나는 경향이었으나^{4,12,14,15} 양성 질환에서의 MAGE 발현율에 대한 연구는 불충분한 상황이다.

본 연구는 세포학 검사 및 미생물 검사 등의 진단목적으로 사용되는 기관지 세척액을 이용하여 폐암에서뿐만 아니라 결핵 등과 같은 양성 병변에서의 MAGE 발현율을 조사하여 임상에서 MAGE검사가 양성으로 발현되었을 때의 임상적 의의를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자

본 연구는 서울의료원 기관심사위원회(Institutional Review Board, IRB)의 승인을 받아 전향적으로 시행하였다. 2009년 1월부터 10개월간 서울의료원 호흡기내과에서 진단목적으로 기관지 내시경을 시행한 환자 중에서, 피험자 동의서에 서명하여 시험참여에 동의한 환자 122명을 대상으로 하였다. anti-HIV 양성 또는 AIDS환자, 조절되지 않는 출혈성 질환 환자와 기관지 내시경 검사상 종괴가 관찰되어 내시경적 조직검사가 가능했던 환자는 대상

에서 제외하였으며, 양성군에서는 타 장기의 암이 확인된 환자를 추가로 제외하였다. 대상 환자는 흉부 전산화 단층촬영 및 필요 시 경피적 세침흡인술 혹은 전이 부위의 조직검사 등을 시행하였고, 환자의 최종진단은 병리학적 및 미생물학적으로 내렸다.

2. 연구 방법

1) 기관지 세척액의 채취 및 보관

환자는 기관지 내시경 시행 전날, 자정 이후부터 금식을 하였고, 검사 직전 Midazolam 0.04 mg/kg을 정주하여 수면 상태에서 5.8 mm 굴곡성 기관지 내시경(Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 병변구역 기관지에 기관지 세척을 3회 시행하였다. 항산균 도말, 배양, 결핵 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR) 및 세포학 검사를 의뢰하였고, 세포학 검사 검체 중 3 mL를 검체 용해용액(specimen digester solution) 15 mL와 격렬하게 혼합하여 바로 -20°C에 냉동시켜 서울의료원 연구소로 이송 후 RNA추출 시까지 -70°C 냉동실에 보관하였다.

2) 기관지 세척액에서의 MAGE A1-A6 역전사 이중 중합효소연쇄반응

RNA 추출, cDNA 합성, MAGE gene PCR 및 GAPD gene PCR의 모든 과정은 Cancer-Hunter[®] kit (iC&G Co., Daegu, Korea)를 사용하였다. Kit에 포함된 magnetic capture bead를 이용하여 검체의 RNA를 추출하고 cDNA를 합성하였으며, 민감도를 높이기 위해 MAGE A1~A6까지의 8종(MAGE A1, -2, -3, -4a, -4b, -5a, -5b, -6)에 대한 공통 시발체를 이용한 1차와 2차 중합효소연쇄반응으로 증폭하여 MAGE유전자의 발현유무를 관찰하였다(Figure 1)¹⁷.

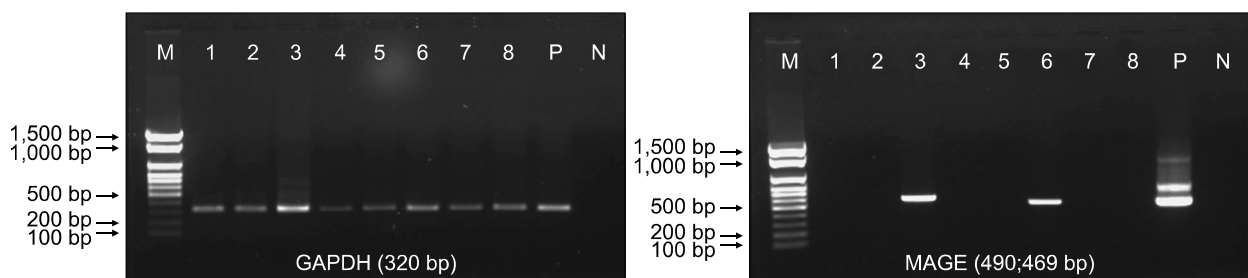


Figure 1. Amplification of MAGE A1-6 genes and GAPDH gene from patients with Anthracotic nodule (1), NTM lung disease (2), Adenocarcinoma (3), Pneumonia, MRSA (4), Aspergilloma (5), Pulmonary TB (6), Benign tumor (7) and BOOP (8). MAGE gene were amplified by RT-nested PCR, and GAPD gene by RT-PCR. M: size marker; P: positive control; N: negative control; MAGE: melanoma antigen genes; GAPDH: glyceraldehydes phosphate dehydrogenase.

3. 통계분석

흑색종항원유전자의 발현정도는 Pearson 카이 제곱법, Fisher's exact test를 이용하여 비교하였으며, 계수 유의 수준이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

대상 환자들은 122명이었으며, 연령의 중앙값은 64세 (범위, 24~94세)였고, 남녀의 비율은 71 : 51이었다(Table 1). 악성군은 23명, 양성군은 99명이었으며, 악성군 23명 중 비소세포폐암 환자가 18명으로 78.3%였고, 소세포폐암 1명(4.3%), 전이성 폐암과 기관지 관련 림프조직 림프종이 각각 2명(8.7%)이었다. 양성군의 경우 폐결핵이 44명(44.4%), 세균성 폐렴 25명(25.3%), 결핵 파괴성 폐와 기관지 확장증 등으로 인한 객혈환자 10명(10.1%), 비결핵 항산균 폐질환 9명(9.1%), 양성종양 6명(6.1%), 그 외 진균증(3명)과 간질성 폐질환(2명)으로 진단되었다.

각 그룹별 진단방법은, 악성군의 경우 경기관지 폐생검(2명), 경피적 세침흡인술(8명)이나 원발 장기(3명) 혹은 전이된 장기(7명, 두개골, 경부 임파절 및 늑막)의 생검 혹은 수술적 절제술(3명)의 검체를 병리학적으로 확진하였다. 양성 폐질환의 경우, 기관지 내시경 생검 및 경기관지 폐생검(13명), 경피적 세침흡인술(10명)이나 수술적 폐생검(3명)으로 병리학적으로 진단하였고, 그 외 결핵과 비결핵 항산균 폐질환, 세균성 폐렴 등에서는 기관지 세척액을 통해 미생물학적으로 진단하였다.

폐렴환자의 기관지 세척액 배양검사로 밝혀진 균주는 MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) 6명(23%), *Pseudomonas* 4명(15.3%), *Acinetobacter* 3명(11.5%), *Pneumococcus* 2명(7.7%), 그 외의 그람 음성

Table 1. Characteristics of patients

	Malignant group	Benign group
Number of patients (%)	23 (18.9)	99 (81.1)
Sex		
Male	13	58
Female	10	41
Age, yr		
Median	68	63
Range	35~87	24~94

간균 및 진균이 5명이었다. 폐결핵 환자 44명 중 27명은 배양 양성이고, 배양 음성 환자 중 5명은 결핵 중합효소 연쇄반응 양성이었으며, 5명은 경피적 세침흡인 검사상 결핵성 육아종으로 진단되었고, 3명은 동반된 흉수 분석상 결핵성 늑막염으로 진단되었으며, 나머지 4명은 방사선학적으로 폐결핵에 합당하여 치료시작 이후 호전을 보인 경우였다.

1. 악성군에서의 MAGE 유전자 발현과 세포학 검사

악성군 23명 중 11명에서 MAGE유전자가 검출되어 MAGE검사의 발현율은 47.8% (p=.000)였고, 세포학 검사는 23명 중 1명만이 양성으로 세포학 검사의 민감도는 4.3% (p=.001)였다. 세포학 검사에서 음성을 보였던 환자 22명 중 11명(50.0%)에서 MAGE검사는 양성으로 나타났으며, MAGE검사에서 음성이었던 환자 12명 중 1명(8.3%)은 세포학 검사에서 양성을 보였다. 비소세포폐암 환자 18명 중 8명(44.4%)에서, 소세포폐암 환자 1명과 폐전이 암과 기관지 관련 림프조직 림프종 환자 각각 2명 중 1명에서 MAGE검사가 양성이었다(p=0.058) (Table 2).

2. 양성 폐질환군에서의 MAGE유전자 발현

양성군 99명 중에서 14명(14.1%)이 MAGE유전자 검사에 양성을 보였다. 14명 중 11명은 폐결핵으로 진단되었으며, 폐결핵으로 진단된 환자(44명)의 25.0% (p=.022)에서 MAGE검사에 위양성을 나타냈다. 14명 중 나머지 3명

Table 2. Expression rate of MAGE AI-A6 RT-nested PCR in bronchial washing fluid according to histologic types

	No. of patient	No. of MAGE expression	Expression rate of MAGE
Malignant group	23	11	47.8%
NSCLC	18	8	44.4%
Small cell carcinoma	1	1	100%
BALToma	2	1	50.0%
Metastatic lung cancer	2	1	50.0%
Benign lung disease	99	14	14.1%
Total	122	25	

MAGE: melanoma antigen genes; RT-nested PCR: reverse transcriptase-nested polymerase chain reaction; NSCLC: non-small cell lung cancer; BALToma: bronchus-associated lymphoid tissue lymphoma.

은 세균성 폐렴(MRSA)과 비결핵 항산균 폐질환(*Mycobacterium abscessus*) 및 결핵 파괴성 폐에서 발생한 객혈 환자였다(Table 3, 4).

Table 3. Expression rate of MAGE A1-A6 RT-nested PCR in bronchial washing fluid with benign lung disease

	No. of patient	No. of patient howing MAGE (+)
Tuberculosis	44	11 (25%)
Bacterial pneumonia	25	1 (4.0%)
Bronchiectasis	10	1 (10%)
NTM lung disease	9	1 (11.1%)
Benign tumor	6	0
Aspergilloma	3	0
ILD	2	0
Total	99	14

MAGE: melanoma antigen genes; RT-nested PCR: reverse transcriptase-nested polymerase chain reaction; NTM: non-tuberculous mycobacterium; ILD: interstitial lung disease.

양성군에서 MAGE 유전자 검사에 양성을 보인 군의 평균 흡연은 11.0±14.9갑년으로, MAGE에 음성으로 나타난 군(13.7±21.6갑년)에서와 유의한 차이는 보이지 않았으며, 흡연경험(현재 흡연자 및 과거 흡연자)의 존재여부가 MAGE 양성군에서 46.7%로 MAGE음성군에서의 37.6%보다 다소 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다(0.572).

상관분석 결과 폐결핵의 존재(p=0.013) 외에는 기관지 천식 및 만성 기관지염, 폐기종 및 기타 만성질환의 존재 및 과거 결핵치료력과 탄분침착증 여부 모두 양성군에서의 MAGE발현율에 유의한 차이는 없었다. 또한 폐결핵 환자군 내에서는 나이, 성별 및 기관지 내 병변의 존재 뿐만 아니라 도말, 배양 및 결핵 중합효소연쇄반응 등의 결과가 MAGE의 발현 여부에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. MAGE유전자에 위양성을 보인 폐결핵환자 중에는 내성결핵이나 결핵성 육아종은 포함되어 있지 않았다.

Table 4. Patient characteristics with positive expression of MAGE A1-6 RT-nested PCR within the benign group

No	Age	Sex	Diagnosis	Endobronchial lesions	BWF culture	PMHx	Smoking, py
1	46	F	Pulmonary TB with EBTB	Endobronchial TB (RLL)	M,TB	N	0
2	74	F	Pulmonary TB, TB pleurisy	Anthracofibrosis	M,TB	N	0
3	36	M	Pulmonary TB	N	M,TB	TDL	10
4	77	M	Pulmonary TB	N	M,TB, <i>Candida albicans</i>	HTN, CVA, chronic bronchitis	30
5	89	M	Pulmonary TB	N	M,TB	N	0
6	46	F	Pulmonary TB	N	M,TB, <i>Klebsiella pneumoniae</i>	N	0
7	49	M	Pulmonary TB	N	M,TB, MRSA	Alcohol dependency, COPD	20
8	76	F	Pulmonary TB	N	N	N	0
9	40	M	TB, necrotizing pneumonia	N	MRSA	DM, Alcohol dependency	40
10	41	M	Pulmonary TB	N	N	N	10
11	38	F	pulmonary TB	N	N	Uterine myoma	15
12	75	M	NTM lung disease	N	M,abscessus	DM	0
13	68	M	Aspiration pneumonia	N	MRSA	CVA, emphysema	40
14	40	M	hemoptysis, TDL	Inflammatory polyp	N	0	0

MAGE: melanoma antigen genes; RT-nested PCR: reverse transcriptase-nested polymerase chain reaction; BWF: bronchial washing fluid; EBTB: endobronchial tuberculosis; py: pack-years of cigarette; TDL: tuberculosis-destroyed lung; DM: diabetes mellitus; CVA: cerebrovascular; COPD: chronic obstructive pulmonary disease; HTN: hypertension; MRSA: methicillin resistant staphylococcus aureus.

Table 5. Expression Rate of MAGE and cytologic examinations

	MAGE		Cytology	
	Malignant	Benign	Malignant	Benign
Positive	11	14	1	0
Negative	12	85	22	99
Expression rate	47.8%	14.1%	4.3%	0%

MAGE: melanoma antigen genes.

3. MAGE유전자 발현과 세포학적 검사의 비교

MAGE검사의 발현율은 47.8%였고, 세포학 검사의 민감도는 4.3%였으며, 양성 질환군의 14.1%에서 MAGE유전자에 위양성을 보였다(Table 5).

고찰

전통적인 폐암의 조기진단법인 정기적인 흉부 방사선 촬영과 객담을 이용한 세포학 검사법이 폐암의 조기진단 방법으로 의미가 없다는 사실이 확인된 이후로, 저선량 나선식 전산화 단층촬영술과 양전자방출 단층촬영술(positron emission tomography, PET), 형광 기관지 내시경 검사법과 협대역 내시경 그리고 분자생물학적인 방법들을 적용한 연구가 시도되고 있다^{3,13,18}. 이론적으로 폐암의 조기진단법은 중심성 및 주변부 폐암을 동시에 진단할 수 있고, 종괴가 형성되기 이전의 암화과정에도 진단이 가능하여 환자의 생존율을 향상시킬 수 있어야 한다는 면에서 분자생물학적인 방법이 집중적으로 연구되고 있으며, 종양 특이항원이 이들 중의 하나이다. 흑색종항원유전자(MAGE)는 비소세포폐암을 비롯한 위암, 식도암, 대장암, 유방암, 간세포암, 난소암 등 다양한 종양에서 발견되며, DNA의 CpG promoter의 탈메틸화(demethylation)에 의하여 유도되는 것으로 알려져 있다¹³. 그러나 태반과 고환을 제외한 정상세포에서는 CpG promoter가 계속 메틸화(methylation)되어 있어 유전자는 활성화되지 않는 상태로 존재한다^{13,19}.

기존에는 MAGE-A의 각 아형에 대한 시발체만을 이용하여 발현율이 낮았으나⁷⁻¹⁰, MAGE 아형 A1~A6까지의 8종(MAGE A-1, -2, -3, -4a, -4b, -5a, -5b, -6)에 대한 공통 시발체를 이용한 MAGE A1~A6 RT-nested PCR 기법으로 민감도가 높아지고 있다. 폐절제술 혹은 경피적 세침흡입

술과 경기관지 생검 조직 등을 이용한 폐암조직과 유도 객담 검사 및 흡수 뿐 아니라 기관지 세척액 등의 다양한 호흡기 검체를 통한 MAGE의 민감도는 46~83%로 기존의 세포학 검사에 비하여 우수한 것으로 보고되고 있으나^{4,11-16}, MAGE유전자가 고환과 태반을 제외한 정상 조직에서는 발현되지 않아 기본적으로 종양 특이유전자로 받아들여지고 있음에도, 양성 병변 혹은 정상 조직에 대한 MAGE의 위양성은 연구자들마다 다르게 보고되고 있다.

Becker 등²⁰은 MAGE-1유전자가 창상 치유과정 중의 정상피부에서도 발현되어 염증이나 조직의 치유과정 중에도 MAGE유전자가 관여할 수 있을 것이라 주장하였다. Jang 등²¹은 흡연중단자의 기관지 상피조직의 브러시조직에서 MAGE 발현율이 35~60%이고, 폐암과 인접한 정상 조직에서 MAGE의 아형에 따라 65~80%까지 발현되어 전 암화과정에서 이미 MAGE가 활성화되었을 것을 시사하였다. 반면 건강 대조군의 유도객담 및 결핵 9예와 만성 기관지염 6예를 포함한 양성 폐질환자의 폐조직 등에서 시행한 MAGE유전자 검사가 모두 음성인 연구와 결핵성 흉막염 환자 16예의 흡수 검사 중 1예에서만 양성으로 발현된 연구도 있었다^{5,7,12,13}. Jheon 등⁴의 연구에서는 폐암으로 적출된 폐에서 얻은 정상 조직의 MAGE 발현이 8.9%, 건강인의 일반 객담 검사상 0.5%, 유도객담 검사상 1.7% 그리고 양성 폐질환에서는 2.1%였으며 이중 폐결핵 환자 36명 중 3명에서 양성으로 발현하였다. 말초형 폐암의 기관지 세척액을 이용한 연구에서 MAGE 유전자의 민감도는 48%에서 68%까지 민감하게 나타났으나, 결핵 및 심한 염증성 질환에 있어서도 25%까지도 위양성을 나타낼 수 있어 이들의 기관지 세척액 검사에서는 해석에 주의를 요하며, 위양성을 극복하기 위한 평가가 이루어져야 한다는 주장이 제기된 바 있다^{14,15}.

본 연구는, 호흡기내과에서 미생물학적 혹은 세포학적인 진단목적으로 기관지 내시경을 시행한 환자들을 대상으로 MAGE 분석을 시행하였다. 본원의 경우 기관지 내 병변이 있을 것으로 예측되는 환자뿐만 아니라 말초형 폐암 및 기타 질환의 진단을 위해 기관지 내시경의 적응증을 넓게 적용하고 있으며, 본 연구에서는 기관지 내시경적 조직 검사만으로 확진이 가능했던 중심형 폐암은 제외하였다. 악성군 23명 중에는 비소세포폐암뿐만 아니라 소세포폐암(1명)과 폐전이암(유방암, 골육종) 및 기관지 관련 림프조직 림프종도 포함되어 있었다. 기존의 연구들에서 소세포폐암 및 폐전이암이 배제된 경우가 많았으나, 본 연구에서는 소세포폐암환자와 전이성 유방암 1명에서

MAGE유전자가 발현되었다. Kim 등¹⁴의 연구에서는 전통적인 세포학 검사와 MAGE유전자 검사를 모두 시행하여 이들 중 하나라도 양성인 경우 경피적 세침흡인술과 필적할 정도의 민감도를 보였으나, 본 연구에서는 말초형 폐암에서의 세포학 검사의 민감도가 특히 낮았으며 세포학 검사와 MAGE유전자 검사에 하나라도 양성인 경우는 52.2% (12/23)였다.

본 연구는 기존의 MAGE유전자 발현율에 대한 연구에 비해서 양성 질환자가 많이 포함되어 있었고, 폐결핵이 44.4%로 가장 많았으며 세균성 폐렴과 기관지 확장증 및 비결핵 항산균 폐질환 등 비교적 다양한 양성 질환군이 포함되었다. 폐결핵 환자에서 MAGE 위양성이 가장 높게 나타나 폐결핵 환자의 25%에서 MAGE에 위양성을 나타내고 있었으나, 폐결핵 환자 내에서는 항산균 도말 및 배양 결핵 중합효소연쇄반응 등의 결과 및 흡연력, 나이, 성별 혹은 과거 결핵치료 회수 등이 MAGE의 발현여부에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 그 외 MAGE유전자에 위양성을 보인 세균성 폐렴 환자는 40갑년의 흡연중단자였으나, 다른 한 명은 비결핵 항산균 폐질환 환자로 흡연력이 전혀 없는 환자로, Kim 등¹⁴의 연구에서와 마찬가지로 흡연력 및 흡연량이 MAGE 유전자의 위양성에 확실한 연관성을 제시하지 못하였다. 또한 만성 기관지염이나 폐기종 등의 만성 염증질환의 존재여부 및 탄분침착증의 여부 등도 MAGE의 위양성에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

폐결핵을 포함한 폐렴 및 비특이적인 염증 등이 지속적인 자극에 의해 유전자 변이를 유발할 것으로 생각되고 이와 관련하여 양성 질환자에서도 MAGE유전자가 발현될 것으로 생각되지만 그 기전이 명백하게 밝혀져 있지는 않다. DNA의 저메틸화는 위암, 유방암, 대장암 등의 여러 암 발생의 비교적 초기단계에서 일어나는 것으로 알려져 있는데, Jang 등²¹은 메틸화 특이 중합효소연쇄반응을 이용하여 폐암 조직에 인접한 정상 조직에서도 CpG promoter의 탈메틸화를 증명하여, 폐암 인접 조직에서의 MAGE 발현이 위양성이라기 보다는 종괴가 형성되기 전 암화과정에서 이미 MAGE가 활성화되었을 것을 시사하였다. 또한 흡연중단자의 기관지 상피 조직의 브러시 조직에서 MAGE발현율이 35~60%로, carcinogen에 노출된 비암화 조직에서도 MAGE가 양성으로 발현되어 위험도 평가에 대한 분자지표로 사용될 가능성과 흡연자에서 만성 기관지염의 가능성이 높아 MAGE유전자가 단순히 기관지 상피 조직의 염증반응에 의해 활성화될 가능성도 시

사하였다²¹.

여러 연구에서 폐결핵 환자에서 MAGE유전자에 위양성이 보고되어 왔으나^{4,12,15}, 폐결핵이 유발한 염증과 섬유화로 유전자 손상을 유발하여 폐결핵 진단 이후 특히 5년 사이에 폐암을 유발할 위험성이 높다는 연구결과로 단순히 위양성이 아닌 암의 전구병변으로 인한 결과일 것이라는 주장을 뒷받침하였다^{22,23}. 또한 MAGE유전자의 특이도를 연구한 Jheon 등⁴에 의하면, 폐암주변의 정상조직에서 0~9%의 발현율을 보이며, 폐결핵환자 객담의 2%에서도 위양성을 보여 만성 염증으로 인한 유전자 변이와 암의 전구 병변에서도 MAGE가 양성으로 발현될 수 있을 것이라 주장하였다. Mecklenburg 등²⁴은 방선균증 및 심한 기관지염 등에서도 MAGE유전자가 위양성으로 발현될 수 있으므로 기관지 세척액에서의 MAGE분석은 심한 염증성 질환을 제외해야 한다고 제안하기도 하였다. 그러나 본 연구에서 폐결핵을 제외한 다른 염증성 질환에서는 단지 5.5% (3/55)만이 MAGE에 위양성을 나타냈지만 폐결핵 환자에서는 MAGE유전자에 25%의 양성율을 보인 점과, Kim 등¹⁵의 경피적 세침흡인술을 이용한 연구에서, 또한 폐결핵 환자의 83%에서 MAGE유전자에 위양성을 보인 점 등은 이러한 주장에 의문을 제기한다. 양성 질환에서 MAGE의 발현이 심한 염증성 질환 혹은 암의 위험인자를 가진 전구병변에서 나타나기 보다는 폐결핵 자체와 관련이 있을 가능성 및 이에 대한 기전 등이 추가로 분석되어야 할 것으로 생각된다. MAGE에 위양성을 나타낸 환자들을 추적관찰하여 향후 폐암의 발생 여부를 관찰하는 것이 필요할 것으로 생각된다.

본 연구는 과거의 연구에서 소수의 양성 질환자에서 단순한 오염 혹은 만성 염증 등의 기능성으로만 제시되었던 MAGE유전자의 위양성에 대하여 다양한 양성 질환에 대한 분석이 이루어졌다는 점에 주목해야 하지만, 폐결핵 및 세균성 폐렴 이외의 양성 질환에 대해서는 적은 환자를 대상으로 하였다는 점과 위양성을 보인 환자들에 대한 폐암 발생여부에 대한 장기적인 추적관찰이 없었다는 제한점이 있다. 또한 폐결핵 환자 내에서도 결핵성 육아종 및 기관지 결핵, 결핵성 흉수염 등에 대한 좀더 많은 환자를 대상으로 한 추가연구와 경피적 세침흡인이나 객담 그리고 흉수 등에 대한 다양한 검체에 대한 분석이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

본 연구의 또 다른 제한점으로 악성 병변에 동반된 기관지염이나 폐렴, 결핵 파괴성 폐 등의 양성 병변에 대하여 방사선학적으로 혹은 수술적으로 절제된 조직을 이용

하여 함께 분석하지 못하여 MAGE유전자의 민감도분석에는 한계가 있을 것으로 생각된다.

본 연구 결과 MAGE의 위양성이 기존 연구보고에 비하여 비교적 높으며 특히 폐결핵 환자의 25.0%에서 MAGE 검사에 위양성을 나타내고 있어, MAGE유전자 검사는 폐암 및 폐암 전구병변에 대한 예측인자로 비침습적인 검사와 상호보완적으로 사용될 수는 있겠으나 폐결핵 호발 국가에서는 해석에 주의를 기해야 하겠으며, 심한 염증성 병변 및 폐결핵이 동반되어 있을 가능성이 높은 환자에서는 MAGE의 사용을 제한하여야 할 것이다. 폐결핵이 만성 염증을 유발하여 발생된 변이형 세포 및 암의 전구병변과 관련하여 MAGE유전자 검사가 암발생에 대한 예측이 가능한 것인지 등에 대한 장기적인 추적관찰과 저메틸화 여부 등을 이용한 분자 생물학적인 연구가 추가되어야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009;59:225-49.
2. Pfister DG, Johnson DH, Azzoli CG, Sause W, Smith TJ, Baker S Jr, et al. American Society of Clinical Oncology treatment of unresectable non-small-cell lung cancer guideline: update 2003. *J Clin Oncol* 2004;22:330-53.
3. Toyoda Y, Nakayama T, Kusunoki Y, Iso H, Suzuki T. Sensitivity and specificity of lung cancer screening using chest low-dose computed tomography. *Br J Cancer* 2008;98:1602-7.
4. Jheon S, Hyun DS, Lee SC, Yoon GS, Jeon CH, Park JW, et al. Lung cancer detection by a RT-nested PCR using MAGE A1-6 common primers. *Lung Cancer* 2004;43:29-37.
5. Yook DS, Shin HS, Choi P, Kim JH, Shin SH, Ok CH, et al. Expression of MAGE in the induced sputum of lung cancer patients. *Tuberc Respir Dis* 2002;53:265-74.
6. Jungbluth AA, Busam KJ, Kolb D, Iversen K, Coplan K, Chen YT, et al. Expression of MAGE-antigens in normal tissues and cancer. *Int J Cancer* 2000;85:460-5.
7. Weynants P, Lethé B, Brasseur F, Marchand M, Boon T. Expression of mage genes by non-small-cell lung carcinomas. *Int J Cancer* 1994;56:826-9.
8. Shichijo S, Hayashi A, Takamori S, Tsunosue R, Hoshino T, Sakata M, et al. Detection of MAGE-4 protein in lung cancers. *Int J Cancer* 1995;64:158-65.
9. Gotoh K, Yatabe Y, Sugiura T, Takagi K, Ogawa M, Takahashi T, et al. Frequency of MAGE-3 gene expression in HLA-A2 positive patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 1998;20:117-25.
10. Yoshimatsu T, Yoshino I, Ohgami A, Takenoyama M, Hanagiri T, Nomoto K, et al. Expression of the melanoma antigen-encoding gene in human lung cancer. *J Surg Oncol* 1998;67:126-9.
11. Kim H, Kim SJ, Lee SH, Seong HS, Lee KO, Jeon CH, et al. Usefulness of melanoma antigen (MAGE) gene analysis in tissue samples from percutaneous needle aspiration biopsy of suspected lung cancer lesions. *Lung Cancer* 2010;69:284-8.
12. Kim KC, Seo CG, Park SH, Choi WI, Han SB, Jeon YJ, et al. Diagnostic utility of MAGE expression in exudative pleural effusion. *Tuberc Respir Dis* 2004;56:159-68.
13. Shin KC, Lee SJ, Kim KJ, Lee JW, Kim HJ, Chung JH, et al. The expression of melanoma antigen encoding gene in lung cancer. *Korean J Med* 2005;68:647-55.
14. Kim HR, Kim TH, Chung JH, Yoon HI, Lee CT, Kang CH, et al. The detection of peripheral lung cancer by MAGE A1-6 RT-nested PCR in bronchial washing specimens. *Lung Cancer* 2009;65:166-9.
15. Kim S, Kim H, Kwon OJ, Chung MP, Suh GY, Koh WJ, et al. The utility of MAGE gene detection in bronchial washing fluid for patients with peripheral NSCLC. *Tuberc Respir Dis* 2008;64:15-21.
16. Jung MH, Kim JH, Kim JH, Park KR, Oak CH, Cho HM, et al. Expression of MAGE and GAGE genes in the bronchogenic cancer tissues obtained by bronchoscopy. *Korean J Med* 2002;62:58-68.
17. Park JW, Kwon TK, Kim IH, Sohn SS, Kim YS, Kim CI, et al. A new strategy for the diagnosis of MAGE-expressing cancers. *J Immunol Methods* 2002;266:79-86.
18. Park JK, Jo YS, Jang SJ, Park YS, Choi CM. Clinical benefits of narrow band imaging bronchoscopy in central lung cancer. *Tuberc Respir Dis* 2010;68:16-21.
19. De Smet C, De Backer O, Faraoni I, Lurquin C, Brasseur F, Boon T. The activation of human gene MAGE-1 in tumor cells is correlated with genome-wide demethylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:7149-53.
20. Becker JC, Gillitzer R, Bröcker EB. A member of the melanoma antigen-encoding gene (MAGE) family is expressed in human skin during wound healing. *Int J Cancer* 1994;58:346-8.
21. Jang SJ, Soria JC, Wang L, Hassan KA, Morice RC, Walsh GL, et al. Activation of melanoma antigen tumor antigens occurs early in lung carcinogenesis. *Cancer*

- Res 2001;61:7959-63.
22. Liang HY, Li XL, Yu XS, Guan P, Yin ZH, He QC, et al. Facts and fiction of the relationship between preexisting tuberculosis and lung cancer risk: a systematic review. *Int J Cancer* 2009;125:2936-44.
 23. Engels EA, Shen M, Chapman RS, Pfeiffer RM, Yu YY, He X, et al. Tuberculosis and subsequent risk of lung cancer in Xuanwei, China. *Int J Cancer* 2009;124:1183-7.
 24. Mecklenburg I, Stratakis DF, Huber RM, Häussinger K, Morresi-Hauf A, Riethmüller G, et al. Detection of melanoma antigen-A expression in sputum and bronchial lavage fluid of patients with lung cancer. *Chest* 2004;125:164S-6S.
-