

한국인의 편평세포암과 기저세포암
에서 Methylene tetrahydrofolate
reductase(MTHFR)와
Thymidylate synthase(TS) 유전자
돌연변이

연세대학교 대학원

의 학 과

이 성 준

한국인의 편평세포암과 기저세포암
에서 Methylene tetrahydrofolate
reductase(MTHFR)와
Thymidylate synthase(TS) 유전자
돌연변이

지도 김 석 원 교수

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2008년 1월

연세대학교 대학원

의 학 과

이 성 준

이 성 준의 박사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2008년 1월

감사의 글

이번 논문의 완성으로 다른 어느 때보다 행복합니다. 돌아보면 지금의 행복은 모두 제 주위에서 만들어 주신 것입니다. 의학을 공부하고 의사의 길을 가는 시간이 제게 앞만 보고 달려와 놓친 것, 잃은 것도 많은 시간이었지만 그 만큼 제 인생 전체를 볼 때 큰 발전과 발돋움의 기간이었습니다. 이렇게 발전할 수 있게 도와주신 제 주위의 모든 분들께 감사의 말씀을 드립니다.

성형외과라는 행복한 학문을 시작하게 해주시고 환자를 보는 일이 행복하다는 것을 열정적으로 가르쳐주신 정윤규 교수님의 은혜를 잊을 수 없습니다. 학문의 행복을 손수 가르쳐 주시고 이번 논문 완성에 아낌없는 성원을 보내주신 김석원 지도교수님께 머리 숙여 감사드립니다. 또한 바쁘신 와중에도 저의 논문을 심사하여 주시고 조언을 아끼지 않으셨던 김수기 교수님, 최응호 교수님, 박광화 교수님, 김성환 교수님께 특별한 감사를 드립니다.

언제나 보이지 않는 곳에서 조용히 기도해주시고 후원해 주신 부모님, 아직도 손자 걱정이신 외할머님께 감사드립니다. 그리고 하나님께 감사드립니다.

오랜 시간에 걸친 연구로 또 다른 완성에 만족하기 보다는 이번 연구를 시작으로 더욱 발전하는 모습으로 보답하겠습니다.

항상 옆에서 제가 행복하다는 것을 일깨워주는 아내가 있어 더욱 행복합니다. 이런 행복을 언제나 가슴에 품고 더 큰 행복을 나누며 살겠습니다.

다시 한번 이번 연구에 도움을 주신 모든 분들께 감사의 말씀을 전합니다. 제 주변의 모든 분들께 하나님의 사랑과 행복이 전해지며 항상 앞길에 축복만 가득하길 간절히 바랍니다.

저자 씀

차 례

그림 및 표 차례	iv
국문요약	1
제1장 서론	2
제2장 연구대상 및 연구방법	6
2.1. 연구대상	6
2.2. 유전자 분석	6
2.2.1. MTHFR C677T와 MTHFR A1298C 돌연변이 유전자 분석	6
2.2.2. TS 3'UTR 1494 6bp insertion/deletion 유전자 분석	7
2.3. 자료 분석 및 통계	9
제3장 결과	10
3.1. MTHFR C677T와 MTHFR A1298C의 돌연변이	10
3.2. MTHFR C677T와 MTHFR A1298C의 돌연변이 조합형 분석	13
3.3. TS 3'UTR 1494 6bp insertion 다형성	15
3.4. MTHFR C677T, MTHFR A1298C와 TS 3'UTR 1494 6bp insertion/deletion의 조합형 분석	16
제4장 고찰	18
제5장 결론	25
참고 문헌	27
영문 요약	36

그림 및 표 차례

Fig. 1-A. PCR analysis of MTHFR 677C→T	
Fig. 1-A. PCR analysis of MTHFR 1298A→C	8
Fig. 2. PCR analysis of TS 3'UTR 1494 6bp insertion polymorphism	8
Table 1. Polymorphisms of MTHFR C677T and MTHFR A1298C in squamous cell carcinoma(SCC)	11
Table 2. Polymorphisms of MTHFR C677T and MTHFR A1298C in basal cell carcinoma(BCC)	12
Table 3. Combination of MTHFR C677T and MTHFR A1298C in squamous cell carcinoma	13
Table 4. Combination of MTHFR C677T and MTHFR A1298C in basal cell carcinoma	14
Table 5. Polymorphisms of TS 3'UTR 1494 6bp insertion in squamous cell carcinoma	15
Table 6. Polymorphisms of TS 3'UTR 1494 6bp insertion in basal cell carcinoma	15
Table 7. Combinations of MTHFR C677T and TS 3'UTR 1494 6bp insertion in basal cell carcinoma	16
Table 8. Combinations of MTHFR A1298C and TS 3'UTR 1494 6bp insertion in basal cell carcinoma	17

국문요약

한국인의 편평세포암과 기저세포암에서 Methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR)와 Thymidylate synthase(TS) 유전자 돌연변이

피부암의 발생에 복구 유전자의 돌연변이, 엽산 합성과정의 손상, 유전자 합성과정의 변성등 유전적 불안정을 초래하는 여러 가지의 원인들이 보고되었다. Methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR)와 Thymidylate synthase(TS)는 엽산 대사과정과 유전자 합성과정에 중요한 효소로 최근 들어 다른 질병과의 관련성이 밝혀지면서 관심이 높아지고 있다. 본 연구는 MTHFR과 TS의 돌연변이형과 관련하여, 한국인의 기저세포암과 편평세포암 발생위험도를 조사하였다.

연세대학교 원주의과대학과 포천중문의과대학 성형외과에서 피부암으로 수술 받고 병리학적 진단을 받은 기저세포암 환자 100명, 편평세포암 환자 100명과 포천중문의과대학 임상의학 연구소의 유전자 표본 중 암 병력을 갖지 않은 207명을 대조군으로 MTHFR과 TS의 돌연변이형을 Polymerase Chain Reaction(PCR)/Restriction Fragment Length Polymorphism(RFLP)을 시행하여 분석하였다.

MTHFR 677C>T, MTHFR 1298A>C 돌연변이는 기저세포암과 편평세포암 환자에서 모두 대조군과 의미 있는 차이를 나타내지 않았다. TS 3'UTR 1494 6bp 돌연변이는 기저세포암 발생 위험도가 통계학적으로 유의 있게 높았다. 즉, 이형접합 변이형(-6bp/+6bp)에서 2.8배(AOR=2.821), 동형접합 변이형(+6bp/ +6bp)에서 7배(AOR=7.539), 그리고 이형접합 변이형이거나 동형접합변이형인 경우에 암발생 위험도는 3배(AOR=3.079)이상 높았다. 그러나 TS 3'UTR 1494 6bp 돌연변이는 편평세포암에서 대조군과 비교하여 유의한 차이를 보이지 않았다.

이상의 결과로 TS 3'UTR 1494 6bp deletion/insertion은 한국인에서 기저세포암 발생위험도를 높이는 인자임 강력히 시사한다.

핵심되는 말: 편평세포암, 기저세포암, Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), Thymidylate synthase(TS)

한국인의 편평세포암과 기저세포암에서
Methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR)
와 Thymidylate synthase(TS) 유전자 돌연변이

<지도 김 석 원 교수>

연세대학교 대학원 의학과

이 성 준

제1장 서 론

피부 편평세포암과 기저세포암은 고령화, 환경오염, 오존층의 파괴등과 함께 발병률이 증가하는 추세에 있으며, 피부 기저세포암을 비롯한 다양한 암의 발생에 복구 유전자의 돌연변이, 엽산 합성 과정의 손상, 유전자 합성 과정의 변성 등 유전적 불안정을 초래하는 여러 가지의 원인들이 보고되었다. DNA 복구유전자, 세포주기 조절 유전자(Izzo 2003), interleukin gene(Kurzrock 2001), Methylene

tetrahydrofolate reductase(MTHFR)등이 이러한 과정에 관여하는 것으로 알려져 있다. 이러한 유전적 불안정을 초래하는 돌연변이는 단백질 합성과 기능의 변화, 손상된 DNA를 복구하는 능력의 변화를 초래하여 유전적 불안정성 또는 발암원인이 될 수 있다(Mohrenweiser 2002).

단일 염기 다형성(single nucleotide polymorphisms, SNPs)은 가장 흔한 유전자 변형이며 매우 다양한 표현형으로 단백질의 변형, 유전자의 promoter 지역에서 전사의 조절을 일으키고, DNA복구 과정에서 base excision repair의 기능에 변화를 일으켜 복구 장애의 원인이 된다(Brem 2005, Lu 2001).

SNPs에 대한 연구는 여러 영역에서 많이 진행되고 있으며, 피부 기저세포암에 대해서도 base excision repair에 관계된 복구유전자 XRCC1(Nelson 2002), XPD(Vogel 2001), XRCC3(Winsey 2000), MTHFR(Zhang 2004, Festa 2005)에 대해 보고되었다. 그중 최근에는 MTHFR에 관심이 높아지고 있다 또한 이와 함께 엽산의 대사과정과 DNA합성 과정 중 cofactor로 사용되어 5,10-methylen THF가 dihydrofolate로 전환되는 과정에서 dUMP를 dTMP로 전환시키는 효소인 Thymidylate synthase(TS)도 SNPs와 연관되어 연구 되고 있다(Hori 1984, Kaneda 1987, Duthie SJ 2000, Khanna 2001).

본 연구는 피부암에 대한 이 두 효소(MTHFR, TS)들의 돌연변이와 피부암 발생의 관계에 대한 연구가 매우 희소하여, 그 상관관계를 밝히고자 하였으며, 두 효소들은 활성도에 따라 상호간 밀접한 영향을 받기 때문에 돌연변이형에 대해서 동시에 조사하였다.

MTHFR은 1p36.3 염색체에 위치하는 유전자로 5,10-methylene tetrahydrofolate를 5-methylene tetrahydrofolate로 전환시켜서 호모시스테인을 사용하여 메티오닌을 합성하는 대사과정에 관여한다. MTHFR 유전자는 아미노산 alanine이 valine으로 변하는 C677T 형태의 돌연변이와, glutamate가 alanine으로 각각 변하는 A1298C 형태의 돌연변이를 갖는다(Robien 2003). 동형접합형 변이형인 677TT 형은 정상 효소활성의 30%, 이형접합형인 677CT형은 65%까지 떨어져 있다(Frosst 1995, Rozen, 1997). 동형접합형 변이형인 1298CC형은 1298AA 동형접합형보다 40%까지 효소의 활성이 떨어져 있다(Put 1998, Weisberg 1998). 그 결과 호모시

스테인이 메티오닌으로 전환되지 못하여 생긴 과량의 호모시스테인이 체내에 축적되고(McCully 1969, Fodigner 2001), 메티오닌 합성의 저하, DNA methylation, dTMP합성 등에 이상을 초래하게 되어 여러 가지 혈관성 질환(Jakubowski 2000), 위암(Wang 2005) 및 식도암(Song 2001)등의 암 발생 위험도를 증가시킨다. 그러나 간암, 대장암(Park 1999), 급성 백혈병(Skibora 1999)의 경우에는 암의 억제기전과 관련이 있다고 보고되었다.

Thymidylate synthase(TS) 유전자는 18번 염색체 단완에 위치하며 MTHFR과 함께 pyrimidine합성, DNA합성과 복제반응에서 deoxynucleotide를 공급하여 dUMP가 dTMP로 전환되는데 꼭 필요한 효소이다(Leichman 1997, Rustum 1997). TS의 Untranslated region(UTR)은 유전자의 전사 또는 전이에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며(Maeng 1998, Goto 2001, Mill 2002, Moor 2005), 5'와 3' UTR에서 3가지의 다형성을 갖는다. 첫번째는 TS enhance region(TSER)의 variable number of tandem repeats이며, 두번째는 G/C SNP이며, 세번째는 3'UTR 1494 6bp insertion 돌연변이로서 세 가지 모두 TS 유전자의 표현에 관계한다(Ulrich 2000, Marsh 2001, Mandola 2004). TS 3'UTR 1494 6bp insertion 돌연변이는 mRNA의 장기 안정성에 관계된 것으로 SNPs(single nucleotide polymorphism)가 있음이 확인되었다. Thymidylate는 rate-limiting nucleotide로서 DNA 합성과 복구에 관여한다. 따라서 충분한 양의 thymidylate는 DNA로 uracil의 misincorporation과 chromosome breakage, fragile site induction을 최소화하는데 필수적이다(Hori 1985). 이 유전자들의 돌연변이로 인하여 과량의 호모시스테인 축적, 메티오닌 합성저하, DNA methylation, dTMP합성 등의 이상을 초래하게 되고, thymidylate의 합성저하는 DNA로 uracil misincorporation을 통해 single 또는 double-strand break depletion을 일으키게 된다(Blount 1997). 일부 보고에서 대장암종, 비호치킨성 림프종, 유방암의 발생 위험도를 증가시킨다고 하였으며(Ulrich 2002, Lightfoot 2005, Zhai 2006), 악성흑색종에서 TS 유전자의 발현이 정상인에 비해 현저히 증가되어 있다고 보고되었다(Vlaykova 1997).

MTHFR과 TS는 환경과 질병에 따라 발생 위험을 억제하거나 증가시키는 다양한 결과를 보여준다. 한편 MTHFR의 기능저하로 발생한 DNA의 hypomethylation

이 *c-myc*, *c-N-ras* 등과 같은 oncogene을 활성화시키고, DNA 합성과 DNA 복구 이상 등을 발생시키지만(Pogribny 1997), 저하된 MTHFR은 folate cofactor를 통한 DNA 합성, DNA 복구를 가능하게 하여, 이를 통해 Uracil misincorporation과 double-strand breaks등을 막을 수 있게 한다(Dianov 1991). 이런 상호 보완 작용으로 methylation과 DNA 합성 및 복구의 중요한 과정을 보호하게 된다.

이러한 두 표적 유전자의 많은 암화 관련증거로 볼 때 피부 기저세포암과 편평세포암에서 발암위험도를 증진인자의 가설을 수립 할 수 있다. 본 연구는 한국인의 편평세포암과 기저세포암에서 MTHFR과 TS의 돌연변이형을 조사하여 피부암 발생 위험도와와의 관련성을 조사하였다.

제2장 연구대상 및 연구방법

2.1 연구대상

실험군은 1998년 1월부터 2006년 3월까지 포천중문의과대학 성형외과와 연세대학교 원주의과대학 성형외과에서 비악성흑색종 피부암으로 절제수술을 받고 병리학적으로 진단 받은 기저세포암 환자 100명과, 편평세포암 환자 100명을 대상으로 하였다. 대조군은 포천중문의과대학교 임상의학 연구소에 보관된 유전자 표본 증암 또는 전암 병소 병력을 갖지 않은 표본 207명을 대상으로 하였다. 이 연구에서 염산의 대사 이상 또는 염산의 섭취 이상에 따른 차이는 배제하였다.

2.2 유전자 분석

MTHFR과 TS 돌연변이형에 대한 빈도를 Polymerase Chain Reaction(PCR)/Restriction Fragment Length Polymorphism(RFLP)과 DNA 염기서열 분석법을 통하여 조사하였다.

2.2.1. MTHFR C677T와 MTHFR A1298C 돌연변이 유전자 분석

DNA분리는 DNA 추출키트(extraction column, QIAmp blood kit, Qiagen, Hilden, Germany)에 의해 제조자의 프로토콜에 따라 환자의 혈액에서 추출한 백혈구로부터 분리하였다. 분리한 DNA표본은 시발체 세트(primer set)인 sense primer (5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3')와 antisense primer (5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGAGTC-3')를 사용하여 Gene Amp PCR machine(Perkin Elmer 2400, Norwalk, CT)으로 증폭시켰다. 198bp 생성물을 증폭시키기 위해 95°C에서 60초 동안 변성시킨 후 62°C에서 90초 동안 시발체를 아닐링(annealing)

시킨 다음 72°C에서 69초 동안 시발체를 연장 반응을 시행하는 과정을 35 사이클 반복하였다. 증폭된 단편들에서 MTHFR 677C→T변이를 인식할 수 있는 제한효소 *HinfI* (New England Biolab, Beverly, MA)로 37°C에서 3-4시간 동안 분해하였다. A 대립유전자 allele에서 얻어진 198bp단편은 *HinfI*에 분해되지 않은 반면에 V 대립유전자에서 얻어진 같은 길이의 단편은 175bp와 23bp로 분해되었다. 이후 *HinfI*으로 처리한 단편들은 3.0% agarose gel에서 전기영동한 후 ethidium bromide로 염색하여 변이상태를 관찰하였다.

MTHFR 1298A→C 돌연변이에 관한 연구는 primer (5'-CTTTGGGGAGCTGAACGACTACTAC-3')를 이용하여 138bp의 단편을 증폭하고, 제한효소 *Fnu4HI* (New England Biolab, Beverly, MA)를 이용하여 절단하여 전기영동 후 돌연변이 여부를 확인하였다. MTHFR 1298AA형은 138bp로, MTHFR 1298CC형은 119bp와 19bp로 각각 분해되었다(Fig. 1A, Fig. 1B).

2.2.2. TS 3'UTR 1494 6bp insertion/deletion 유전자 분석

6bp를 포함하는 DNA를 primer set인 sense primer (5'-CAAATCTGAGGGAGCTGAGT-3')와 antisense primer (5'-CAGATAAGTGGCAGTACAGA-3')를 사용하여 PCR 증폭을 하였다. PCR 과정은 94°C에서 5분간 1 사이클, 30초씩 40 사이클, 54°C에서 40초, 72°C에서 40초, 5분간 1 사이클을 시행한 뒤, 증폭된 조각은 *DraI*(New England Biolab, Beverly, MA)을 처리하여 전기영동을 하였다.

이형 접합형 변이형(0bp/6bp)은 분해되지 않은 152bp와 158bp가 분해된 70bp와 88bp의 단편을 나타낸다. 동형 접합형 0bp/0bp는 152bp로, 6bp/6bp는 70bp와 88bp로 나타났다(Fig. 2).

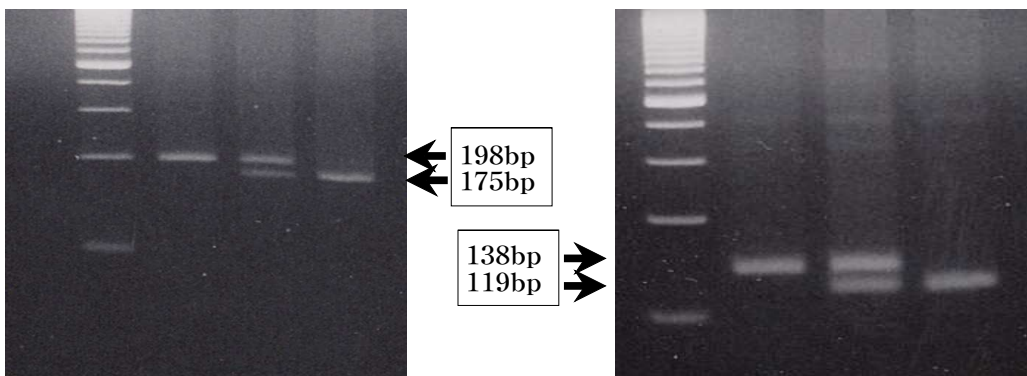


Fig. 1A. PCR analysis of MTHFR 677C→T

Fig. 1B. PCR analysis of MTHFR 1298A→C

Lane M : 100bp DNA ladder Marker. Lanes 1~3 : PCR products of the MTHFR genotypes (677C→T, CC/CT/TT; 1298A→C, AA/AC/CC).

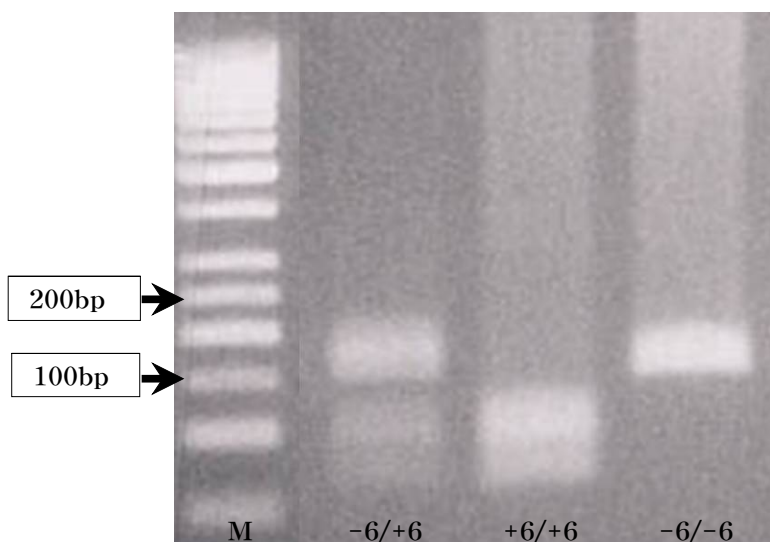


Fig. 2. PCR analysis of TS 3'UTR 1494 6bp insertion polymorphism

Lane M : 100bp DNA ladder marker. Genotyping by DraI digestions show undigested 152bp(homozygote -6bp/-6bp) and digested 70bp/88bp(homozygote +6bp/+6bp), respectively. Heterozygote -6bp/+6bp have all.

2.3 자료 분석 및 통계

통계는 SAS통계 프로그램 version 9.1(SAS Institute, Cary, NC) 사용하였고, 비교위험도를 측정하기 위하여 odds ratio(OR)와 adjusted odds ratio(AOR), 95% 신뢰구간을 사용하였다. 그리고 나이, 성별, 흡연, 일광 노출도 등을 적용하여 AOR 값을 계산하였다.

제3장 결 과

3.1. MTHFR C677T와 MTHFR A1298C의 돌연변이

피부의 편평세포암에서 MTHFR C677T와 MTHFR A1298C의 돌연변이는 대조군과 의미 있는 차이를 나타내지 않았다. 또한 나이, 성별, 흡연력, 직업, 일광 노출시간등을 고려한 AOR값도 의미 있는 차이를 나타내지 않았다(Table 1). 다만, MTHFR C677T의 돌연변이형은 편평세포암 발생을 억제하는 경향을, MTHFR A1298C의 돌연변이는 편평세포암을 증가시키는 경향을 나타내었다. 편평세포암에서 MTHFR C677T의 동형접합 변이형은 피부암 발생을 낮추는 경향이 강했으며(AOR=0.304, 95% CI:0.074-1.253, table 1), 이형접합 변이형이거나 동형접합 변이형의 경우는 약 50%(AOR=0.516, 95%CI:=0.214-1.247, Table 1)정도 암 발생을 억제하는 경향을 보여주었다. 그러나 편평세포암에서 MTHFR A1298C의 AC 이형접합형 변이형은 연령 55세를 기준으로 분리할 경우, 55세 초과에서 OR값이 3.351(1.088-10.330)이며, p 값이 0.036으로 약 3배 정도 편평세포암 발생을 증가시킴을 알 수 있었다.

피부의 기저세포암에서도 MTHFR C677T와 MTHFR A1298C의 돌연변이는 대조군과 의미 있는 차이를 나타내지 않았으며 AOR값도 의미 있는 차이를 나타내지 않았다(Table 2).

Table 1. Polymorphisms of MTHFR C677T and MTHFR A1298C in squamous cell carcinoma(SCC)

SCC	Controls(%)	Cases(%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)*	<i>Cp</i> **
677C>T					
CC	71(34.3)	40(42.1)	-	1.000	-
CT	106(51.2)	44(46.3)	0.737(0.437-1.243)	0.590 (0.237-1.469)	0.284
TT	30(14.5)	11(11.6)	0.651(0.295-1.437)	0.304 (0.074-1.253)	0.336
CT+TT	136(65.7)	55(57.9)	0.718(0.436-1.182)	0.516 (0.214-1.247)	0.201
1298A>C					
AA	149(72.0)	60(63.2)	-	1.000	-
AC	54(26.1)	35(36.8)	1.610(0.957-2.708)	1.737(0.689-4.378)	0.079
CC	4(1.9)	0(0.0)	0.275(0.015-5.182)	0.000002	0.579
AC+CC	58(28.0)	35(36.8)	1.499(0.895-2.510)	1.585(0.639-3.930)	0.140
Total	207(100.0)	95(100.0)			

*: Adujusted for age, sex, number of cigarettes per day, occupation and duration of sun exposure per day; OR, odd ratio; CI confidential interval

***: p* < 0.05

Table 2. Polymorphisms of MTHFR C677T and MTHFR A1298C in basal cell carcinoma(BCC)

BCC	Controls (%)	Cases (%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)	<i>C_p</i>
MTHFR					
C677T					
CC	71(34.3)	35(35.0)		1.000	
CT	106(51.2)	49(49.0)	0.938(0.553-1.590)	0.676(0.295-1.545)	0.893
TT	30(14.5)	16(16.0)	1.082(0.522-2.244)	0.566(0.174-1.837)	0.853
CT+TT	136(65.7)	65(65.0)	0.970(0.587-1.601)	0.675(0.314-1.453)	0.899
MTHFR					
A1298C					
AA	149(72.0)	79(79.0)		1.000	
AC	54(26.1)	20(20.0)	0.699(0.391-1.249)	0.480(0.183-1.259)	0.256
CC	4(1.9)	1(1.0)	0.472(0.052-4.293)	0.232(0.009-6.110)	0.663
AC+CC	58(28.0)	21(21.0)	0.683(0.387-1.206)	0.450(0.175-1.158)	0.211
Total	207(100.0)	100(100.0)			

3.2. MTHFR C677T와 MTHFR A1298C의 돌연변이 조합 형 분석

편평세포암과 기저세포암 모두에서 MTHFR C677T와 MTHFR A1298C의 돌연변이 조합형 분석은 통계적으로 의미 있는 차이를 나타내지 않았다. 편평세포암에서 CC/AC, CT/AA, TT/AA의 조합형이 암 발생을 억제시키는 통계적으로 근접한 결과를 보여주었다(Table 3). 특히 TT/AA 조합형의 억제경향이 강하였다.

기저세포암에서 MTHFR C677T과 MTHFR A1298C의 돌연변이를 조합한 경우 통계적 유의성은 없었지만, CC/AC, CT/AA, TT/AA(AOR=0.206, 0.399, 0.350, 95%CI: 0.034-1.233, 0.143-1.113, 0.093-1.315)의 조합형이 CC/AA형과 비교하여 60%이상 암 발생 위험도를 낮추는 경향을 나타내었다(Table 4).

Table 3. Combination of MTHFR C677T and MTHFR A1298C in squamous cell carcinoma(SCC)

SCC	Controls(%)	Cases(%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)
MTHFR C677T				
/MTHFR				
A1298C				
CC/AA	38(18.4)	23(24.2)	-	-
CC/AC	29(14.0)	17(17.9)	0.969(0.439-2.138)	0.538(0.124-2.336)
CC/CC	4(1.9)	0(0.0)	0.182(0.009-3.538)	2.16E-08
CT/AA	81(39.1)	26(27.4)	0.530(0.269-1.048)	0.281(0.066-1.192)
CT/AC	25(12.1)	18(18.9)	1.190(0.536-2.640)	0.726(0.172-3.073)
TT/AA	30(14.5)	11(11.6)	0.606(0.255-1.437)	0.146(0.021-1.002)
Total	207(100.0)	95(100.0)		

Table 4. Combination of MTHFR C677T and MTHFR A1298C in basal cell carcinoma(BCC)

BCC	Controls (%)	Cases (%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)
MTHFR C677T				
/MTHFR				
A1298C				
CC/AA	38(18.4)	24(24.0)	-	-
CC/AC	29(14.0)	10(10.0)	0.546(0.226-1.319)	0.206(0.034-1.233)
CC/CC	4(1.9)	1(1.0)	0.396(0.042-3.758)	-
CT/AA	81(39.1)	39(39.0)	0.762(0.403-1.443)	0.399(0.143-1.113)
CT/AC	25(12.1)	10(10.0)	0.633(0.259-1.549)	0.295(0.054-1.608)
TT/AA	30(14.5)	16(16.0)	0.844(0.382-1.867)	0.350(0.093-1.315)
Total	207(100.0)	100(100.0)		

3.3. TS 3'UTR 1494 6bp insertion 다형성

피부 편평세포암에서 TS의 3'UTR 1494 6bp돌연변이는 대조군과 비교하여 통계학적인 의미를 찾을 수 없었다(Table 5). 그러나 기저세포암에서 TS 3'UTR 1494 6bp 돌연변이는 통계학적으로 발암위험도를 유의 있게 높였다. 이형접합 변이형에서 2.8배(AOR=2.821), 동형접합 변이형에서 7배(AOR=7.539), 그리고 이형접합 변이형이거나 동형접합 변이형일 경우에 3배(AOR=3.079)이상 기저세포암 발생 위험도를 높이는 것으로 나타났다(Table 6).

Table 5. Polymorphisms of TS 3'UTR 1494 6bp insertion in squamous cell carcinoma(SCC)

SCC	Controls (%)	Cases (%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)
TS 6bp insertion				
0bp/0bp	96(46.6)	39(41.9)	-	-
0bp/6bp	99(48.1)	53(57.0)	1.318(0.799-2.173)	1.970(0.499-2.874)
6bp/6bp	11(5.3)	1(1.1)	0.224(0.028-1.793)	2.058(0.167-25.40)
0bp/6bp+6bp/6bp	110(53.4)	54(58.1)	1.208(0.737-1.982)	1.234(0.517-2.945)
Total	206(100.0)	93(100.0)		

Table 6. Polymorphisms of TS 3'UTR 1494 6bp insertion in basal cell carcinoma(BCC)

BCC	Controls(%)	Cases(%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)
TS 6bp insertion				
0bp/0bp	96(46.6)	28(28.0)	-	-
0bp/6bp	99(48.1)	65(65.0)	2.251(1.332-3.804)	2.821(1.209-6.584)
6bp/6bp	11(5.3)	7(7.0)	2.182(0.773-6.155)	7.539(1.100-51.66)
0bp/6bp+6bp/6bp	110(53.4)	72(72.0)	2.244(1.340-3.757)	3.079(1.332-7.116)
Total	206(100.0)	100(100.0)		

3.4. MTHFR C677T, MTHFR A1298C와 TS 3'UTR 1494 6bp insertion/deletion의 조합형 분석

TS 3'UTR 1494 6bp insertion과 MTHFR C677T, MTHFR A1298C을 각각 조합하여 비교하였을 경우 편평세포암에서는 통계학적 의의를 보이지 않았다.

기저세포암에서 MTHFR C677T/TS 3'UTR 1494 6bp insertion의 CC/6bp(+)와 CT/6bp(+)일 경우 Crude OR 값은 암발생의 위험도를 증가시키는 것으로 나타났으나, 나이, 성별, 흡연력, 직업, 일광 노출시간을 고려한 AOR값은 의미를 나타내지 않았다(Table 7).

MTHFR A1298C와 TS 3'UTR 1494 6bp insertion의 AA/6bp(+)일 경우 기저세포암 발생의 위험도를 3배 이상(AOR=3.288, 95%CI:1.238-8.729) 증가시키는 요소로 작용하였다(Table 8).

Table 7. Combinations of MTHFR C677T and TS 3'UTR 1494 6bp insertion in basal cell carcinoma(BCC)

BCC	Controls(%)	Cases(%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)*
MTHFR C677T				
/TS 6bp insertion				
CC/6bp(-)	34(16.5)	8(8.0)	-	-
CC/6bp(+)	37(18.0)	27(27.0)	3.101(1.240-7.754)	4.192(0.748-23.48)
CT/6bp(-)	51(24.8)	14(14.0)	1.167(0.442-3.081)	0.374(0.057-2.455)
CT/6bp(+)	54(26.2)	35(35.0)	2.755(1.143-6.641)	2.809(0.682-11.57)
TT/6bp(-)	11(5.3)	6(6.0%)	2.318(0.659-8.159)	54.75(0.402-7.459)
TT/6bp(+)	19(9.2)	10(10.0)	2.237(0.755-6.629)	1.204(0.196-7.397)
Total	206(100.0)	100(100.0)		

Table 8. Combinations of MTHFR A1298C and TS 3'UTR 1494 6bp insertion in basal cell carcinoma(BCC)

BCC	Controls (%)	Cases (%)	OR (95% CI)	AOR (95% CI)
MTHFR A1298C				
/TS 6bp insertion				
AA/6bp(-)	71(34.5)	23(23.0)	-	-
AA/6bp(+)	77(37.4)	56(56.0)	2.245(1.253-4.021)	3.288(1.238-8.729)
AC/6bp(-)	23(11.2)	4(4.0)	0.537(0.168-1.715)	0.509(0.081-3.203)
AC/6bp(+)	31(15.0)	16(16.0)	1.593(0.741-3.424)	1.703(0.377-7.687)
CC/6bp(-)	2(1.0)	1(1.0)	1.543(0.134-17.83)	
CC/6bp(+)	2(1.0)	0(0.0)	0.609(0.028-13.14)	
Total	206(100.0)	100(100.0)		

제4장 고찰

암의 발생은 지속적으로 증가하고 있으며, 다양한 원인으로 설명되고 있다. 최근에 암 발생의 원인이 외부 환경적 요인과 더불어 면역학적 요인이나 유전자 차원에서의 변성 등의 다면적인 분석으로 시도되고 있다. 본 연구에서는 성형외과 영역에서 가장 흔하면서도 환자의 삶의 질을 저하시키는 피부암을 대상으로 유전자 변성, 복구유전자의 돌연변이, 기타 DNA합성에 관여하는 효소 또는 합성과정의 돌연변이를 연구하여 피부암 발생의 원인적 요소 및 위험도와의 관계를 연구하였다.

본 연구에서 편평세포암의 MTHFR C677T의 돌연변이형은 나이, 성별, 흡연력, 직업 및 일광 노출도 등의 변수들을 모두 보정할 경우 통계학적 의미를 갖지 못했다. 그러나 CT형과 TT형 모두 편평세포암에서 암 발생을 억제하는 경향을 보였다. 나이만 보정할 경우에는 동형접합 변이형(TT)과 이형 및 동형접합 변이형의 조합(CT/TT)형에서 각각 암 발생을 억제하는 통계적 유의한 차이를 보였고 (OR=0.334, 95%CI; 0.121-0.920/ OR=0.508, 95%CI; 0.261-0.980), 나이와 성별을 보정할 경우 TT형에서(OR=0.343, 95%CI; 0.125-0.942), 나이와 성별, 흡연력을 보정할 경우 CT/TT 조합형에서(OR=0.437, 95% CI; 0.204-0.937) 암 발생을 억제시키는 통계적으로 유의한 결과를 보였다. 그러나 다른 개별 요소들을 각각 비교하거나, 성별과 나이를 세분할 경우, 전체적인 보정에서 통계적 의미를 갖지 못했다. 이것은 MTHFR C677T의 돌연변이형이 편평세포암에서 암발생위험도간의 개연성이 떨어지는 것으로 추측할 수 있다.

MTHFR A1298C의 돌연변이형은 편평세포암 발생 증가에 통계학적 의미를 찾을 수 없었다. 그러나 나이를 보정할 경우 이형접합 변이형(AC)에서(OR=2.208, 95%CI;1.088-4.481), 나이와 성별을 보정할 경우 AC형과 AC/CC 조합형에서 (OR=2.267, 95%CI;1.111-4.626, OR=2.034, 95%CI;1.011-4.093), 나이와 성별 및 흡

연력을 보정할 경우(OR=2.381, 95%CI:1.079-5.255) 암 발생이 두 배정도 높아지는 것을 알 수 있다. 나이를 세분할 경우 AC형이 55세 이상에서 암 발생을 세 배정도 증가시키는 요소임을 알 수 있다(OR=3.351, 95%CI:1.088-10.330, p=0.036). MTHFR A1298C 돌연변이는 편평세포암에서 통계적 의미는 없이 암 발생을 증가시키는 요인으로 작용하는 경향이었으며, 나이와 성별, 흡연력이 암발생 위험도와 밀접한 관계에 있음을 알 수 있다.

피부 편평세포암의 MTHFR C677T와 MTHFR A1298C 돌연변이에 대해 보고한 다른 연구가 없어서 직접적인 비교가 곤란하지만, 두경부 편평세포암에 대해 비히스패닉계 백인을 대상으로 발표한 보고에서(Neumann 2005), 성별, 나이, 흡연과 음주를 고려 할 경우 MTHFR A1298C의 AC와 CC형, AC/CC 조합형이 통계학적으로 의미 있게 암 발생을 억제하는 효과를 보고하였다(AOR=0.69, 0.28, 0.65, 95%CI: 0.5-0.9, 0.1-0.6, 0.5-0.8). Crude OR 값을 비교 할 경우 MTHFR C677T의 이형접합 변이형(CT)이 암 발생을 증가시키는 경향이 있는 것으로(OR=1.21 ; 95% CI=0.9-1.6) 나타났으나 통계적 의미는 없었다. 유전자 변이의 개수를 1개 이하와 2개 이상으로 구분할 경우 각각 나이, 현재 흡연, 현재 음주력이 있는 경우에서 암 발생의 위험도가 2배내지 3배 증가함을 보여주었으나 이 인자들이 복합적으로 작용할 경우에는 통계학적 의미를 발견할 수 없다고 보고하였다. 이 결과들과 비교할 경우 한국인에서 MTHFR C677T 돌연변이는 피부 편평세포암에서 암 발생을 억제하는 경향을 보여주고, MTHFR A1298C의 경우는 암 발생을 증가시키는 경향을 보여주어 서로 반대의 결과를 나타내고 있다. 이러한 결과는 암의 발생 부위와 인종간의 차이를 고려해야 할 것으로 본다.

피부 기저세포암에서 MTHFR C677T 과 MTHFR A1298C의 돌연변이형은 통계적 유의성은 없었으나, 동형 접합형과 비교했을 때 각각 약 35%, 50%정도 모두 암 발생을 억제하는 경향이 있었고, 특히 MTHFR A1298C의 CC형은 70%이상의 억제 효과가 있었다. 이런 결과로 미루어 MTHFR A1298C의 C 대립유전자가 암 발생 억제 효과를 갖는 것으로 추정한다. MTHFR A1298C에서 일광노출을 보정

할 경우 AC/CC형에서 AA형과 비교했을 때 암 발생을 약 50%정도 억제하는 (OR=0.48, 95%CI:0.234-0.985) 의미 있는 결과를 보여주었다. 기타 다른 요소들을 개별적으로 또는 조합하여 보정을 할 경우에도 통계적 의미를 보이지 않았다.

스웨덴인을 대상으로 피부 기저세포암의 MTHFR C677T 돌연변이 연구 결과에서 CC형을 기준으로 TT형이 암 발생을 증가시키는 것으로(OR=1.67, 95% CI=1.13-2.47), T 대립유전자의 빈도 역시 암 발생을 증가시키는 요소로 보고하였다. MTHFR A1298C는 암 발생에 대해 C 대립유전자가 암 발생을 증가시키는 것으로 보고하였으나 통계적 의미를 갖지 못하였다(Zhang 2004). 스웨덴과 필란드인을 대상으로 피부 기저세포암의 MTHFR C677T와 MTHFR A1298C를 연구한 결과 모두 암 발생의 위험성과 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나(Festa 2005), MTHFR C677T의 TT와 MTHFR A1298C의 AA를 조합할 경우(TT/AA) 암 발생을 증가시키는 요소로 작용하는 경향을 보고하였다($p < 0.07$, OR=1.94, 95%CI; 0.96-3.89). 본 연구에서 MTHFR C677T과 MTHFR A1298C의 돌연변이를 조합한 경우 통계적 유의성은 없었지만, CC/AC, CT/AA, TT/AA(AOR=0.206, 0.399, 0.350, 95%CI; 0.034-1.233, 0.143-1.113, 0.093-1.315)의 조합형이 CC/AA형과 비교하여 60%이상 암 발생 위험도를 낮추는 경향을 나타냄을 알 수 있다. MTHFR C677T돌연변이 단독보다는 MTHFR A1298C와 조합이 된 경우에 억제 효과가 더 크게 나타난 것으로 보아 두 가지의 돌연변이를 모두 가진 개체에서 암 발생의 위험이 더 적을 것으로 판단된다. 그리고 MTHFR A1298C의 돌연변이형이 더 강한 억제 효과를 가짐을 알 수 있으며, 변이형을 2개 가진 동종접합 변이형이 더 암 발생을 억제하는 경향을 나타낸다. OR값으로 비교하여 보아도 동일한 결과를 얻을 수 있다. 스웨덴과 필란드인을 대상으로 한 연구와 상반된 결과를 보여주었으며, MTHFR A1298C의 C 대립유전자는 한국인과 스웨덴인에서 상반된 작용을 하는 것을 알 수 있다. AOR을 감안하였을 때 지역적, 인종적 요인이 영향을 미치는 것으로 추정하고, 다른 연구에서 유전자형 외에 기타요인을 보정하지 않은 요인들이 결과에 영향을 주었다고 사료된다.

미국 California주의 Los Angeles와 China Guangxi의 거주민 중 대조군과 간암 환자를 대상으로 한 MTHFR C677T와 MTHFR A1298C, TS 3'UTR 1494에 대한 분석에서, 통계학적 유의성은 없었지만, MTHFR C677T와 MTHFR A1298C의 동형접합변이형이(각각 TT형과 CC형) 동형접합형보다 30~50%정도 암 발생을 억제하는 경향을 보였다. 두 가지의 조합형에서는 MTHFR C677T의 TT형과 MTHFR A1298C의 AA형을 동시에 가진 경우(TT/AA)에서 30%정도(OR=0.63, 95%CI; 0.31-1.29)의 암 발생 억제를 나타내었다. 변이형을 2개 가진 동종접합 변이형은 암 발생을 억제하는 경향이 있었으며, 변이형을 1개 가진 경우는 동종접합형과 암 발생에서 차이를 보이지 않았다. 이 결과는 암의 종류는 다르지만 본 연구의 피부 기저세포암의 결과와 일치하는 결과를 보여준다.

TS에 대한 피부암과의 관계는 본 연구에서 처음으로 보고한다. Thymidylate는 rate-limiting nucleotide로서 DNA 합성과 복구에 관여하므로 충분한 양의 Thymidylate는 DNA로 uracil의 misincorporation과 chromosome breakage, fragile site induction을 최소화하는데 필수적이다. 여러 연구에서 -6/-6형이 척수 이분증, 폐암, 위암에서 발생 위험도를 낮추는 것으로 보고하였다. 일부 보고에서는 대장암, 비호치킨성 림프종, 유방암, 악성흑색종 발생 위험도를 증가시킨다고 하였다.

피부 편평세포암의 TS 3'UTR 1494 6bp돌연변이의 +6/+6형은 대조군과 비교하여 통계학적 유의성은 없었지만, 암 발생을 증가시키는 경향을 나타내었다.

본 연구에서 피부 기저세포암에서 TS 3'UTR 1494 6bp는 이형접합 변이형 (-6/+6)에서 2.8배, 동형접합 변이형(+6/+6)에서 7배, 그리고 두 형태를 혼합할 경우에 동형접합형(-6/-6)에 비해 3배 이상의 피부암 발생의 위험도를 통계적으로 의미 있게 높이는 것으로 나타났다. 또한, 6bp insertion을 한 가지를 포함한 경우보다 두 가지를 포함한 경우가 암 발생의 위험이 더 높았다. 그러나 동형접합 변이형의 개체수가 대조군과 기저세포암군에서 각각 11례와 7례로 적게 관찰되어,

위험도의 증가 폭에 대해서는 통계학적 한계가 있다.

피부 기저세포암에서 6bp insertion된 경우 나이, 성별, 흡연력, 직업, 일광 노출도 등의 변수와 이들의 조합형에서 모두 2배에서 9배까지 암 발생의 위험을 통계적으로 유의하게 증가시켰다. 특히, 나이의 경우 55세를 기준으로 그 이상에서 암 발생의 위험이 통계학적으로 유의하게 높아졌다(-6/+6 + +6/+6, OR=2.386, 95%CI :1,262-4.834, $p=0.012$).

피부암 이외의 다른 암에서 시행한 연구와 비교할 경우, 미국 California주의 Los Angeles와 China Guangxi의 거주민 중 대조군과 간암환자를 대상으로 한 TS 3'UTR 1494에 대한 분석에서, Los Angeles 지역에서 +6/+6에 비해 +6/-6형과 -6/-6형이 약 50% 정도의 암 발생 억제 효과를 나타내었다. MTHFR과 TS를 조합하여 2개 이상 4개까지의 대립유전자의 돌연변이를 갖은 경우 동형접합형이거나 1개의 대립유전자 이상을 갖은 경우에 비해서 Los Angeles 지역 대상인 경우 상당한 암 발생 억제효과를 나타내었다. 이것은 본 연구에서 +6bp가 포함된 경우에서 암 발생이 2배에서 3배까지 증가한 경우와 비교해서 6bp insertion이 매우 강력한 위험요소로 작용함을 알 수 있다. 같은 동양인인 한(漢)족도 암 발생의 위험도를 높이는 경향을 보여주었다. Thymidylate synthase의 -6bp형은 MTHFR의 돌연변이로 효소의 기능이 저하되어 5,10 methylenetetrahydrofolate의 양이 증가된 경우에, 이를 이용하여 thymidylate의 합성이 증가되어 이차적인 uracil misincorporation과 double-strand breaks를 감소시켜 보호효과를 나타내는 것으로 본다(Blount 1997).

MTHFR과 TS를 조합하여 비교할 경우 통계적 유의성은 없지만, 피부 편평세포암에서 MTHFR C677T의 TT형과 6bp(+)의 조합이 CC/6bp(-)에 비해서 약 70%정도 암 발생을 억제시키는 경향을(AOR=0.309, 95%CI:0.040-2.372) 나타냈다. CC/6bp(+)의 경우는 오히려 암 발생의 위험도를 높이는 결과를 보여주었다(AOR=1.776, 95%CI:0.413-7.634). MTHFR C677T의 TT형이 TS의 6bp insertion

보다 강한 억제 성형을 갖는 것으로 추정한다. MTHFR A1298C와 TS 3'UTR 1494 6bp insertion을 조합할 경우 AC/6bp(+)의 조합이 동형접합형과 6bp(-)과 비교했을 때 2배 이상의 암 발생 위험을 증가시키는 경향을(AOR=2.646, 95%CI :0.712-9.831) 나타내는데, 이는 두 돌연변이가 모두 위험도를 증가시키는 상호작용을 한 것으로 추측한다.

기저세포암에서 MTHFR C677T/TS 6bp insertion의 CC/6bp(+)와 CT/6bp(+)일 경우 crude OR 값은 통계적으로 유의하게 암 발생의 위험도를 증가시키는 것으로 나타났으나, 나이, 성별, 흡연력, 직업, 일광 노출시간을 고려한 AOR값은 유의성을 나타내지 않았다(Table 7). 동형접합형과 6bp(+)의 조합형이 이형접합형과 6bp(-)의 조합형보다 암 발생의 위험이 약 3배정도 높게 나타나는 것으로 보아 대립 유전자 C와 6bp(+)가 상호 상승 작용을 일으키는 것으로 추정한다. MTHFR A1298C와 TS 3'UTR 1494 6bp insertion의 AA/6bp(+)일 경우 AOR 값이 3.288이고, 95%CI:1.238-8.729로 암 발생의 위험도를 3배 정도 증가시키는 요소로 작용하였다(Table 8). AC와 6bp(-)조합형에 비해서는 약 6배의 암 발생 위험도를 갖는 것으로 대립 유전자 C의 억제 성향이 없는 상황에서 상호 상승 작용을 한 것으로 보이며, 기저세포암에서 대립 유전자 C의 억제 성향과 6bp insertion의 촉발 성향이 상대적으로 강함을 알 수 있다.

본 연구는 Thymidylate Synthase(TS) gene의 5'와 3' UTR에서 3가지의 다형성 가운데 한 가지를 연구한 것에서 제한점을 갖는다. 향후 5' UTR의 Thymidylate synthase enhance region(TSER)에서 Variable number of tandem repeats(VNTR)와 G/C SNP에 대해서도 연구가 필요할 것이다. 또한, 본 연구에서 엽산의 섭취 등의 식이 환경요인을 배제하였는데, 이것과 관련하여 피부암 발생의 상관관계를 연구해 볼 수 있다.

본 연구의의는 두 효소(MTHFR,TS)의 특정 돌연변이형과 한국인의 피부암발생의 상관관계를 밝힌 최초의 보고이며, 따라서 피부암의 조기발견과 진단 및 맞춤

DNA chip을 제조하기 위한 기초자료로 기능할 수 있어 향후 본 연구의 타당성 및 응용성이 기대된다.

제5장 결론

본 연구는 한국인의 편평세포암과 기저세포암에서 MTHFR C677T와 MTHFR A1298C의 돌연변이, TS의 3'UTR 1494 6bp deletion/insertion 돌연변이 및 피부암과의 발암위험도를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

편평세포암에서 MTHFR 677과 MTHFR 1298의 유전자 다형성은 편평세포암 위험도 증가 또는 감소의 통계학적 의미를 갖지 못하였으나, MTHFR C677T의 돌연변이형은 CT형과 TT형 모두 피부암 발생을 억제하는 경향을 보였다. MTHFR A1298C 돌연변이는 편평세포암 발생을 증가시키는 요인으로 작용하는 경향이었으며, 나이를 세분할 경우 AC형이 55세 이상에서 암 발생을 세 배정도 증가시키는 요소임을 알 수 있었다.

기저세포암에서도 MTHFR 677과 MTHFR 1298의 유전자 다형성은 기저세포암 위험도 증가 또는 감소의 통계학적 의미를 갖지 못하였으나, 암 발생을 억제하는 경향이 있었다. MTHFR A1298C의 CC형은 70%이상의 억제 효과가 있어서, C 대립유전자가 암 발생 억제 효과를 갖는 것으로 추정되며, 일광노출을 보정할 경우 AC/CC형에서 AA형과 비교했을 때 암 발생을 약 50%정도 억제하는 의미 있는 결과를 보여주었다.

편평세포암에서 TS 3'UTR 1494 6bp deletion/insertion의 +6/+6형은 대조군과 비교하여 통계학적 유의성은 없었지만 암 발생을 증가시키는 경향을 나타내었다.

기저세포암에서 TS의 3'UTR 1494 6bp deletion/insertion은 통계적으로 유의하게 동형접합형(-6bp/-6bp)에 비해 이형접합 변이형(-6bp/+6bp)에서 2.8배, 동형접합 변이형(+6bp/+6bp)에서 7배, 그리고 동형접합형 변이형이거나 이형접합 변이형인 경우에 3배 이상의 기저세포암 발생의 위험도가 높은 것으로 나타났다. 6bp

insertion을 한 가지를 포함한 경우 보다 두 가지를 포함한 경우가 암 발생의 위험이 더 높았다.

또한 기저세포암에서 MTHFR A1298C/TS 3'UTR 1494 6bp deletion/insertion의 조합형에서 AA/6bp(+)일 경우 AA/6bp(-)와 비교했을 때 역시 암 발생의 위험도를 3배 이상 증가시키는 것을 확인할 수 있었다. 이것은 TS 3'UTR 1494 6bp deletion/insertion에서 6bp insertion이 암 발생의 위험도를 현저히 증가시키는 작용을 하고, 반대로 6bp deletion은 암 발생 억제효과가 크다는 것을 알 수 있다.

참 고 문 헌

- Aquilina G, Bignami M. 2001. "Mismatch repair in correction of replication errors and processing of DNA damage". *J Cell Physiol*, 187:145
- Blount BC, Mack MM, Wehr CM, Macgregor JT, Hiatt RA, Wang G. 1997. "Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage". *Proc Natl Acad Sci USA*, 94:3290-3295
- Blount BC, Mack MM, Wehr CM. 1997. "Folate deficiency cause uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage". *Proc Natl Acad Sci USA*, 94: 3290-3295
- Brem R, Hall J. 2005. "XRCC1 is required for DNA single-strand break repair in human cells". *Nucl Acids Res*, 33:2512-2520
- Dianov GL, Timchenko TV, Sinitsina OI, Kuzminov AV, Medvedev OA, Salganik RI. 1991. "Repair of uracil residues closely spaced on the opposite strands of plasmid DNA results in double strand break and deletion formation". *Mol Gen Genet*, 225:448-452
- Duthie SJ. 1999. "Folic acid deficiency and cancer: mechanisms of DNA instability". *Br Med Bull*, 55:578-592
- Duthie SJ, Narayanan S, Blum S, Piric L, Brand G. 2000. "Folate deficiency in

- in vitro induces uracil misincorporation and DNA hypomethylation and inhibits DNA excision repair in immortalized normal colon epithelial cells". *Nutr Cancer*, 37:245-251
- Esteller M, A. Garcia, J. M. Martinez-Palones, J. Xercavins, J. Reventos. 1997. "Germ line polymorphisms in cytochrome-P450 1A1(C4887 CYP1A1) and methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR) genes and endometrial cancer susceptibility". *Carcinogenesis*, 18:2307-2311
- Festa F, Kumar R, Sanyal S, Uden B, Nordfors L, Lindholm B, Snellman E, Schalling M, Försti A, Hemminki K. 2005. "Basal cell carcinoma and variants in genes coding for immune response, DNA repair, folate and iron metabolism". *Mutat Res*, 1:574:105-111
- Fodinger M, Wagner OF, Horl WH, and Sunderplassman G. 2001. "Recent insights into the molecular genetics of the homocystein metabolism". *Kidney Int 59 Suppl*, 78:238-242
- Frosst P, Blom HJ, Milos R. 1995. "A candidate genetic risk factor for vascular diseases: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase". *Nat Genet*, 10:111-113
- Friedberg EC. 2001. "How nucleotide excision repair protects against cancer". *Nat Rev Cancer*, 1:22-33
- Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. 2002. "Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk". *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 11:1513

- Goto Y, Yue L, Yokoi A, Nishimura R, Uehara T, Koizumi S, Saikawa Y. 2001. "A novel single-nucleotide polymorphism in 3'-untranslated region of the human dihydrofolate reductase gene with enhanced expression". *Clin Cancer Res*, 7:1952-1956
- Han J, Colditz GA, Hunter DJ. 2007. "Polymorphisms in the MTHFR and VDR genes and skin cancer risk". *Carcinogenesis*, 28:390-397
- Hori T, Ayusawa D, Shimizu K, Koyama H, Seno T. 1984. "Chromosome breakage induced by thymidylate stress in the thymidylate synthase-negative mutants of mouse FM3A cells". *Cancer Res*, 44:703-709
- Hori T, Ayusawa D, Glover TW, Seno T. 1985. "Expression of fragile site on the human X chromosome in somatic cell hybrids between human fragile X cells and thymidylate synthase-negative mouse mutant cells". *Jpn J Cancer Res*, 76:977-983
- Izzo JG, Papadimitrakopoulou VA, Liu DD, den Hollander PL, Babenko IM, Keck J, EI-Naggar AK, Shin DM, Lee JJ, Hong WK, Hittelman WN. 2003. "Cyclin D1 genotype, response to chemoprevention, and progression rate to upper aerodigestive tract cancer". *J Natl Cancer Inst*, 95:198-205
- Jakubowski H, Zhang L, Bardequez A, Aviv A. 2000. "Homocysteinylthiolactone and protein homocysteinylation in human endothelial cells: implication for atherosclerosis". *Circ Res*, 87: 45-47
- Jian-Min Yuan, Shelly C. Lu, David Van Den Berg, Sugantha Govindarajan,

- Zhen-Quan Zhang, Jose M. Mato, Mimi C. Yu. 2007. "Genetic Polymorphisms in the Methylenetetrahydrofolate reductase and Thymidylate Synthase Genes and risk of hepatocellular carcinoma". *Hepatology*, 46: 749-758
- Kaneda S, Takeishi K, Ayusawa D, Shimizu K, Seno T, Altman S. 1987. "Role in transiation of a triple trandemly repeated sequence in the 5'-untranslated region of human thymidylate synthase mRNA". *Nucl Acids Res*, 15:1259-1270
- Khanna KK, Jackson SP. 2001. "DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection". *Nat Genet*, 27:247-254
- Kurzrock. R. 2001. "The role of cytokines in cancer-related fatigue". *Cancer*, 92:1684-1688
- Leichman CG, Lenz HJ, Leichman L, Danenberg K, Baranda J, Groshen S. 1997. "Quantitation of intratumoral thymidylate synthase expression predicts for disseminated colorectal cancer response and resistance to protracted-infusion fluorouracil and weekly leucovorin". *J Clin Oncol*, 15:3223-3229
- Lightfoot TJ, Skibola CF, Willett EV, Skibola DR, Allan JM, Coppede F. 2005. "Risk of non-Hodgkin lymphoma associated with polymorphisms in folate-metabolizing genes". *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 14:2999-3003
- Lu Al, Li X, Gu Y, Wright PM, Chang DY. 2001. "Repair of oxidative DNA damage: mechanism and functions". *Cell Biochem Biophys*, 35:141-170

- Marsh S, McKay JA, Cassidy J, McLeod HL. 2001. "Polymorphism in the thymidylate synthase promoter enhancer region in colorectal cancer". *Int J Oncol*, 19:383-386
- Mandola MV, Stoehlmacher J, Zhang W, Groshen S, Yu MC, Iqbal S, Lens HJ, Ladner RD. 2004. "A 6bp polymorphism in the thymidylate synthase gene causes message instability and is associated with decreased intratumoral TS mRNA levels". *Pharmacogenetics*, 14:319-327
- Matsuo K, Suzuki R, Hamajima N, Ogura M, Kagami Y, Taji H, Kondon E, Maeda S, Asakura, Kaba S, Nakamura S, Seto M, Morishima Y and Tajima K. 2001. "Association between polymorphisms of folate and methionine-metabolizing enzymes and susceptibility to malignant lymphoma". *Blood*, 97:3205-3209
- Maeng JH and Moon JB. 1998. "The human PTFgamma/SNAP43 gene: structure, chromosomal location, and identification of a VNTR in 5'-UTR". *J Biochem*, 14:23-27
- McCully KS. 1969. "Vascular Pathology of homocysteinemia: implication for the pathogenesis of arteriosclerosis". *Am J Pathol*, 56:111-128
- Mill J, Asherson P, Browes C, D'Souza U, Craig I. 2002. "Expression of the dopamine transporter gene is regulated by the 3' UTR VNTR: Evidence from brain and lymphocytes using quantitative RT-PCR". *Am J med Genet*, 114:975-979
- Mohrenweiser HW, I. M. Jones. 1998. "Variation in DNA repair is a factor in

- cancer susceptibility: a paradigm for the promises and perils of individual and population risk estimation?". *Mutat Res*, 400:15-24
- Mohrenweiser HW, Xi T, Vázquez-Matías J, Jones IM. 2002. "Identification of 127 amino acid substitution variants in screening 37 DNA repair genes in humans". *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 11:1054-1064
- Moor CH, Meijer H, Lessenden S. 2005. "Mechanisms of translational control by the 3' UTR in development and differentiation". *Semin Cell Dev Biol*, 16:49-58
- Nelson HH, Kelsey KT, Mott LA, Karagas MR. 2002. "The XRCC1 Arg399Gln polymorphism, sunburn, and, non-melanoma skin cancer: evidence of gene environment interaction". *Cancer Res*, 62:152
- Neumann AS, Lyons HJ, Shen H, Liu Z, Shi Q, Sturgis EM, Shete S, Spitz MR, EI-Naggar A, Hong WK, Wei Q. 2005. "Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: a case-control analysis". *Int J cancer*, 20:115: 131-136
- Park KS, Mok JW, and Kim JC. 1999. "The 677C→T mutation in 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase and colorectal cancer risk". *Genet Test*, 3:233-236
- Pogribny IP, Muskhelishvili L, Miller BJ, James SJ. 1997. "Presence and consequence of uracil in preneoplastic DNA from folate/methyl-deficient rats". *Carcinogenesis*, 18:2071-2076

- Robien, K., C.M. Ulrich. 2003. "5,10-methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk : a HuGE minireview". *Am J Epidemiol*, 157:571-582
- Rozen R. 1997. "Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR)". *Thromb Haemost*, 78:523-526
- Rustum YM, Harstrick A, Cao S, Vanhoefer U, Yin MB Wilke H. 1997. "Thymidylate synthase inhibitors in cancer therapy: direct and indirect inhibitors". *J Clin Oncol*, 15: 389-400
- Shastry. B. S. 2002. "SNP alleles in human disease and evolution". *J Hum Genet*, 47:561-566
- Skibola CF, Smith MT, Kane E, Roman E, Rollinson S, Cartwright RA, Morgan G. 1999. "Polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene are associated with susceptibility to acute leukemia in adults". *Proc Natl Acad Sci USA*, 96:12810-12815
- Song C, Xing D, Tan W, Wei Q, Lin D. 2001. "Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms increase risk of esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population". *Cancer Res*, 61:3272-3275
- Ulrich CM, Bigler J, Bostrick R, Fosdick L, Potter JD. 2002. "Thymidylate synthase promoter polymorphisms, interaction with folate intake, and risk of colorectal adenoma". *Cancer Res*, 62:3361-3364

- Ulrich CM, Bigler J, Velicer CM, Greene EA, Farin FM, Potter JD. 2000. "Searching expressed sequence tag databases: discovery and confirmation of a common polymorphism in thymidylate synthase gene". *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 9:1381-1385
- van der Put NM, Gabreels F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK, van der Heuvel LP, Blom HJ. 1998. "A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects?". *Am J Hum Genet*, 62:1044-1051
- Vlaykova T, Jekunen AP, Kesomaa M, Kairemo KJ, Pyrhönen S, Wasenius VM. 1997. "Increased thymidylate synthase gene expression in metastatic melanoma". *Oncology*, 54:146-152
- Vogel U, Hedayati M, Dybdahl M, Grossman L, Nexø BA. 2001. "Polymorphisms of the DNA repair gene XPD: correlations with risk of basal cell carcinoma revisited". *Carcinogenesis*, 22:899-904
- Wang LD, Guo RF, Fan ZM, He X, Gao SS, Guo HQ, Matsuo K, Yin LM, Li JL. 2005. "Association of methylenetetrahydrofolate reductase and thymidylate synthase promoter polymorphisms with genetic susceptibility to esophageal and cardia cancer in a Chinese high-risk population". *Dis Esophagus*, 18:177-184
- Weisberg I, Tran P, Chritensen B, Sibani S, Rozen R. 1998. "A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity". *Mol genet Metab*, 64:169-172

- Winsey SL, Haldar NA, Marsh HP, Bunce M, Marshall SE, Harris AL, Wojnarowska F, Welsh KI. 2000. "A variant within the DNA repair gene XRCC3 is associated with the development of melanoma skin cancer". *Cancer Res*, 60: 5612
- Zhai X, Gao J, Hu Z, Tang J, Qin J, Wang S. 2006. "Polymorphisms in thymidylate synthase gene and susceptibility to breast cancer in a Chinese population: a case-control analysis". *BMC cancer*, 6:138
- Zhang J, Cui Y, Kuang. 2004. "Association of the thymidylate synthase polymorphisms with esophageal squamous cell carcinoma and gastric cardiac adenocarcinoma". *Carcinogenesis*, 25:2479-2485
- Zhang Z, Liu W, Jia X, Gao Y, Hemminki K, Lindholm B. 2004. "Use of pyrosequencing to detect clinically relevant polymorphisms of genes in basal cell carcinoma". *Clin Chim Acta*, 342:137-143

ABSTRACT

Genetic Polymorphism of Methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR) and Thymidylate synthase(TS) in Squamous cell carcinoma and Basal cell carcinoma of the Korean

Sung Jun, Lee

Dept. of Medicine

The Graduate School

Yonsei University

Methylenetetrahydrofolate reductase(MTHFR) and Thymidylate synthase (TS) are important enzymes in folic acid metabolism and DNA synthesis. Despite intense evidences of MTHFR and TS in relation with oncogenesis, direct linkage of these genes with skin cancer was poorly documented. Moreover, whether these gene would be plausible risk factor of skin cancer is veiled. To adress these issues, we analyzed the risk-factor relationship between a variety of MTHFR and TS polymorphism with the basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma of Korean people.

The study population was composed of 200 patients with skin cancer(n=100 squamous cell carcinoma, n=100 basal cell carcinoma) and 207 control subjects. Patients with skin cancer were enrolled and recruited form January 1998 to March 2006 in the Department of Plastic and Reconstructive Surgery at Yonsei Wonju Christian Hospital and the Department of Plastic and Reconstructive Surgery at Bundang CHA General Hospital. The controls(n=207) were healthy individuals without any history of premalignant skin lesions or other malignant

disorders. Blood and tissue samples from both groups were analyzed for the presence of MTHFR C677T, MTHFR A1298C polymorphism and 3'UTR 1494 6bp deletion/insertion using the RCP/RELP method.

We found that MTHFR A1298C is a factor that contributes to the development of squamous cell carcinoma among people 55 years or older by almost 3 times(OR=3.351) the normal rate. However, in patients of basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma, MTHFR C677T and MTHFR A1298C mutations did not show a meaningful difference to the control. In basal cell carcinoma, TS 3'UTR 1494 6bp deletion/insertion significantly increases the statistical risk of basal cell carcinoma. The risk of cancer is increased 2.8 times(AOR=2.821) in heterozygous type variables(-6bp/+6bp), 7 times(AOR=7.539) in homozygous type variables(+6bp/ +6bp), and by 3 times (AOR=3.079) in the case where heterozygous type variables(-6bp/+6bp) and homozygous variables(+6bp/ +6bp) are combined. However, in squamous cell carcinoma, TS 3'UTR 1494 6bp deletion/insertion does not result in any meaningful differences with a control. In addition, when AA/6bp(+) is compared with AA/6bp(-) in combination with MTHFR A1298C/TS 3'UTR 1494 6bp deletion/insertion, there is a correlation between AA/6bp(+) and AA/6bp(-) that shows the risk of basal cell carcinoma is increased by 3 times (AOR=3.288).

The data indicates that TS 3'UTR 1494 6bp deletion/insertion significantly produces a higher risk of basal cell carcinoma.

Key Words: Squamous cell carcinoma, Basal cell carcinoma, Methylene tetrahydrofolate reductase(MTHFR), Thymidylate synthase(TS)