

소아 급성 림프구성 백혈병 환자에서의
glutathione S-transferase 유전자 다형성

연세대학교 대학원

의학과

원성철

소아 급성 림프구성 백혈병 환자에서의
glutathione S-transferase 유전자 다형성

연세대학교 대학원

의학과

원성철

소아 급성 림프구성 백혈병 환자에서의
glutathione S-transferase 유전자 다형성

지도교수 유 철 주

이 논문을 석사학위 논문으로 제출함

2002 년 12 월 일

연세대학교 대학원

의학과

원 성 철

원성철의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

심사위원 _____ 인

연세대학교 대학원

2002 년 12 월 일

감사의 글

이 논문을 무사히 마칠 수 있도록 은혜를 주신 하나님께 우선 감사를 드립니다. 또한, 도움을 주신 많은 분들에게 말로는 다 할 수 없이 감사를 드립니다.

우선 제가 레지던트 수련과정 중에 소아암에 관심을 가지도록 배려해 주시고 또한 이 논문을 지도해 주신 유철주 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 또한, 많이 바쁘신 중에도 시간을 내주셔서 깊은 관심을 보여주신 민유홍 교수님과 김현옥 교수님께도 감사를 드립니다.

제 학위 과정중에 물질적으로, 정신적으로 큰 힘이 되 주셨던 부모님께 감사를 드립니다. 또한, 저의 아내로써 그리고 같은 소아과를 전공하는 의사로써 두가지 의무를 충실히 수행하며, 내조를 아끼지 않았던 경미에게도 감사하며, 제가 힘들때마다 저를 보면 웃어주는 저의 아들 예준은 제가 논문을 마치는데 큰 힘이 되었습니다. 그리고, 저의 어린 아들을 키워주시느라 수고하신 장인·장모님께도 감사를 드립니다.

저에게 도움을 주시고, 조력자가 되어주신 많은 분들을 다 글로 열거하지 못함을 아쉬워하며 이만 감사의 글을 마칩니다.

저자 씀

차 례

그림 및 표 차례	ii
국문요약	1
I. 서론	2
II. 재료 및 방법	5
1. 대상	5
2. 유전자형 검사	5
3. 자료분석 방법	8
III. 결과	9
IV. 고찰	12
V. 결론	15
참고문헌	16
영문요약	21

그림 차례

Fig. 1. Genotype analyses of *GSTM1* and *GSTT1* 9

Fig. 2. Genotype analyses of *GSTP1* 105 codon 10

표 차례

Table 1. Distribution of *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* 11
genotypes in ALL

Table 2. A comparative table of GSTs 14
between previous and current study

국문요약

소아 급성 림프구성 백혈병 환자에서의 glutathione S-transferase 유전자 다형성

Glutathione S-transferase (GST)는 세포질에 존재하는 효소로서 여러 유전자 다형성 (polymorphism)을 보이며, 동형접합체의 소실이나 변형 등으로 인해 효소의 기능이 저하되거나 소실되면 발암물질의 해독능력이 감소하여 암 발생을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 이에 저자는 소아 급성 림프구성 백혈병(acute lymphoblastic leukemia, ALL) 환자에서 GST의 유전자 다형성에 대해 조사를 시행하여 *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* 유전자의 다형성이 정상인과 소아 ALL에서 어떠한 상관관계가 있는지 조사하였다.

소아 ALL환자 26명으로부터 골수세포를 채취하였으며, 정상 대조군으로는 13명의 말초혈액을 채취하였다. 채집된 골수세포 및 말초혈액에서 DNA를 추출하였으며, *GSTM1*, *GSTT1* 유전자형은 중합 효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용하여, *GSTP1* 105 codon 및 114 codon에 대해서는 증폭된 PCR 산물로 제한효소를 이용한 제한 효소절편길이 다형성 분석법(restriction fragment length polymorphism, RFLP)을 시행하여 유전자형 검사를 시행하였다.

GSTT1 null type이 소아 ALL에서 정상 대조군에 비해 통계적으로 의미있게 많지 않은 것에 비해 *GSTM1* null type은 소아 ALL에서 2.6배[odds ratio(OR), 0.38; 95% Confidence interval(CI), 0.1-1.5; $P=0.043$] 많은 것으로 나타났다. *GSTP1* Val₁₀₅/Val₁₀₅ 유전형의 경우 Ile₁₀₅/Val₁₀₅유전형과 Val₁₀₅/Val₁₀₅유전형을 합한 군에 비해 소아 ALL이 정상 대조군에 비해 1.6배(OR, 0.63; 95% CI, 0.16-2.43; $P=0.38$) 많은 것으로 나타났으나 통계적인 의미는 없었다.

본 연구는 비교적 적은 수의 환자군 및 대조군에서 이루어진 것으로 우리나라에서 GST 유전자의 인종간 차이 및 소아 ALL의 발생에 미치는 영향을 대변한다고 할 수는 없으나, 결과적으로 GST 유전자의 다형성, 특히 *GSTM1* null type의 유전자를 가지고 있는 경우는 소아 ALL에서 정상 대조군에 비해 상대적으로 많은 것을 알 수 있었다.

핵심되는 말 : glutathione S-transferase, 다형성, 급성 림프구성 백혈병

소아 급성 림프구성 백혈병 환자에서의
glutathione S-transferase 유전자 다형성

<지도교수 유 철 주>

연세대학교 대학원 의학과

원 성 철

I. 서론

Glutathione S-transferase (GST)는 세포질에 존재하는 효소로서 세포 외부 혹은 내부에서 유래된 독성 물질을 해독하는 역할을 한다. GST는 이합체(dimer)를 형성하여 돌연변이 유발 친전자성 물질(mutagenic electrophilic substrate)을 glutathione과 결합시켜 처리하는 작용을 한다¹. 사람에서는 GST가 GST α , GST μ , GST θ , GST π 의 4개의 군으로 이루어져 있다. 각각의 군은 또 다시 몇몇의 구성 요소로 나눌 수 있으며, 이러한 것은 GST 유전자의 다형성(polymorphism)에 의하여 결정된다. GST μ 군 내에는 *GSTM1*을 coding하는 유전자가 있는데, 이 유전자가 동형 접합의 소실(homozygotic deletion)이 되는 경우에는 이 효소가 만들어지지 않게 된다(*GSTM1* null). 같은 기전으로 GST θ 군에는 *GSTT1*이 관여된다. GST π 군에는 *GSTP1*이 해당되며, 이에 해당하는 유전자의 105 codon (Ile105Val)과 114 codon (Ala114Val)에 의하여 다형성체가 생기게 된다. 특히 *GSTP1* 내에서의 다형성체는 각각 다른 촉매활성도를 보이는 것으로 되어 있다^{1,2}.

주위 환경에서 benzopyrene과 polyaromatic hydrocarbon과 같은 중요한 발암물질은 GST가 관여하여 해독을 시키게 된다¹. GST가 여러 다형성을 보이는 경우 각각의 다른 효소 활성도를 보이게 되므로, 이에 따라 발암의 정도도 다르게 나타난다. 즉, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*의 유전자형에 따라 흡연과 연관된 암종³⁻⁶, 방광암⁷, 유방암⁸⁻¹⁰, 위암¹¹, 대장암¹² 등의 유발 정도가 달라지게 된다. 또한 GST는 항암제를 투여하는 경우 항암제에 대한 내성에도 관여하는 것으로 되어 있다. 예를 들어, GST 효소의 활성도가 높은 경우에는 암이 발생할 확률이 낮은 반면, 암이 생긴 경우 항암제를 투여할 때 항암제 해독작용이 증가되어 항암제 효과를 감소시키게 된다. GST 효소와 관계되는 항암제로는 chlorambucil, melphalan, cyclophosphamide, steroid 등이 있다. 또한 간접적으로는 adriamycin, mitomycin C, carboplatin, cisplatin 약제의 해독작용에도 관계하는 것으로 되어 있다¹³⁻¹⁶.

현재까지 보고된 GST 유전자 다형성에 대한 결과로는 인종간의 차이에 대하여 Chen 등¹⁷의 보고에 의하면, *GSTM1* null 유전자 표현형이 백인에서는 50% 정도이며, 미국내 흑인에서는 35%를 차지하였다. *GSTT1* null 유전자 표현형은 건강한 백인에서 15~38%로 보고되고 있으며 흑인에서는 조금 더 많은 수에서 나타나는 것으로 되어있다. 소아 백혈병과의 연관성에 대한 결과로는 *GSTM1*, *GSTT1*의 두 가지 효소 모두 표현되지 않은 환자가 흑인에서 백인에 비하여 통계학적으로 의미있게 많다고 하였다. 또한 Hall 등¹⁸의 보고에 의하면 *GSTM1* 표현은 소아 ALL 예후 인자인 진단 당시 나이, 말초혈액 백혈구 수와는 관계없이 독립적인 변수로서 작용하며 예후 결정에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 되어 있다.

소아 급성 림프구성 백혈병(acute lymphoblastic leukemia, ALL)은 소아에서 가장 많이 발생하는 종양으로 현재 사용되고 있는 치료 방침에 따라 약 70%의 높은 완치율을 보이는 질환이다. 이 질환의 원인에 대하여는 아직 뚜렷하게 밝혀진 것은 없다. 또한 발병하게 되는 환자의 특성에 대하여도 밝혀진 것은 없다. 이 질환의 치료 성적을 좌우하게 하는 예후인자에는 진단 당시 연령과 진단 당시 말초혈액 백혈구 수치가 가장 중요한 것으로 되어 있으며, 이외에도 백혈병 세포의 immunophenotype, 염색체 전좌의 유무, DNA ploidy 등이 보고되어 지고 있다^{19,20}.

이와같이 아직 GST 유전자 다형성과 소아 ALL과의 연관관계는 확실히 밝혀져 있지 않으며, 또한 여러 군의 유전자 다형성을 종합적으로 취급한 연구가 없는 실정이며, 우리나라에서는 GST 유전자 다형성에 대하여 소아 ALL 환자와 일반인에 대한 연구가 이루어지지 않았으므로, 이 연구의 중요성이 있다고 하겠다.

따라서, 본 연구에서는 소아 ALL 환자에서의 GST 유전자 다형성에 대하여 조사를 함으로서 일반 대상자의 결과와 차이가 있는지 비교하여, ALL 집단에서 다형성의 양상이 어떻게 나타나는지 여부를 알아보고자 하였다..

II. 재료 및 방법

1. 대상

세브란스병원 소아과에서 ALL로 진단받은 후 치료 중에 있는 혹은 치료 종료된 소아 환자 26명과 다른질환으로 응급실 내원 혹은 입원 중인(일반 대상자) 13명을 대상으로 하였다. 소아 ALL 환자는 진단당시 및 재발된 경우가 포함되어 있으며, 재발된 환자의 경우 재발당시 골수검사로부터 골수세포를 채취하였다.

2. 유전자형 검사

소아 ALL 환자의 골수세포 및 일반 대상자의 말초혈액을 한 차례 혹은 여러차례에 걸쳐 얻어 골수세포는 Ficoll Hypaque(Sigma Diagnostics, St. Louis, U.S.A.)를 이용하여 단핵구층을 분리한 후 -80°C 에 보관하였다.

소아 ALL 환자의 진단 당시 골수세포 혹은 일반 대상자로부터 얻어진 말초혈액의 단핵구로부터 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 260nm의 spectrophotometer로 측정하여 실험 사용여부를 결정하였다.

*GSTM1*과 *GSTT1* 유전자형 검사를 위하여 아래와 같은 조건으로 polymerase chain reaction(PCR)을 시행하였다¹⁷.

GSTM1 primer(Bioneer, Korea) :

sense ; 5'- GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C -3'

anti-sense ; 5'- GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G -3'

GSTT1 primer(Bioneer, Korea) :

sense ; 5'- TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC -3'

anti-sense ; 5'-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA -3'

GSTM1 시발체(primer)는 *GSTM1* 유전자의 2401-2422 부위와 2598-2619 부위로 각각 결정하였다. *GSTT1* 시발체는 *GSTT1* 유전자 cDNA의 469-491 부위와 704-723 부위로 각각 결정하였다.

DNA template 2 μ l, 시발체는 각각 2 μ l(40 pmole), 1.5 mM MgCl₂, 2.5mM dNTP, 2.5U(0.5 μ l) Taq DNA polymerase(Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA), 10 \times PCR buffer 5 μ l와 증류수로 최종 양을 50 μ l로 하였다. 초기 변성은 94 $^{\circ}$ C에서 3분간, 시발체 결합반응은 60 $^{\circ}$ C 30초(*GSTM1*의 경우, *GSTT1*은 62 $^{\circ}$ C), 연장반응은 72 $^{\circ}$ C 30초, 변성은 94 $^{\circ}$ C 30초로 하여 35회 시행한 후 마지막 연장반응으로 72 $^{\circ}$ C 7분간 시행하였다. PCR product를 2% agarose gel에 전기 영동하여 *GSTM1*은 219 bp 크기, *GSTT1*은 480 bp 크기의 band를 확인하여 homozygous혹은 null type의 유형을 판별하였다.

GSTP1 105 codon 및 114 codon 유전자는 증폭된 PCR 산물로 제한효소를 이용한 제한효소절편길이 다형성 분석법(restriction fragment length polymorphism, RFLP)을 시행하여 유전자형 검사를 시행하였다.

GSTP1 105 codon 확인을 위하여 아래와 같은 조건으로 PCR을 시행하였다²¹.

GSTP1-105 codon primer(Bioneer, Korea) :

sense ; 5'-ACC CCA GGG CTC TAT GGG AA -3'

anti-sense ; 5'-TGA GGG CAC AAG AAG CCC CT -3'

GSTP1-105 codon 시발체는 *GSTP1* 유전자의 1481-1500 부위와 1641-1670 부위로 각각 결정하였다.

DNA template $2\mu\text{l}$, 시발체는 각각 $2\mu\text{l}$ (40 pmole), 1.5 mM MgCl_2 , 2.5mM dNTP, 2.5U($0.5\mu\text{l}$) Taq DNA polymerase, $10\times$ PCR buffer $5\mu\text{l}$ 와 증류수로 최종 양을 $50\mu\text{l}$ 로 하였다. 초기 변성은 94°C 에서 3분간, 시발체 결합반응은 60°C 30초, 연장반응은 72°C 30초, 변성은 75°C 30초로 하여 35회 시행한 후 마지막 연장반응으로 72°C 7분간 시행하였다.

PCR 시행후 PCR 산물 $13\mu\text{l}$, BsmAI(New England BioLabs Inc., MA, USA) $0.5\mu\text{l}$ (2.5U) 와 $10\times$ Buffer $1.5\mu\text{l}$ 로 최종양을 $15\mu\text{l}$ 로 하여 55°C 에서 1 시간동안 반응시킨 후 2% agarose gel에 전기 영동하여 band를 확인하여 homzygous, heterozygous, 및 null type의 유형을 판별하였다.

GSTP1 114 codon 확인을 위하여 아래와 같은 조건으로 PCR을 시행하였다²².

GSTP1 114 codon primer(Bioneer, Korea) :

sense ; 5'-GTT GTG GGG AGC AAG CAG AGG -3'

anti-sense ; 5'- CAC AAT GAA GGT CTT GCC TCC C -3'

GSTP1-114 codon 시발체는 *GSTP1* 유전자의 7971-7991 부위와 8186-8188 부위로 각각 결정하였다.

DNA template $2\mu\text{l}$, 시발체는 각각 $2\mu\text{l}$ (40 pmole), 1.5 mM MgCl_2 , 2.5mM dNTP, 2.5U($0.5\mu\text{l}$) Taq DNA polymerase, $10\times$ PCR buffer $5\mu\text{l}$ 와 증류수로 최종 양을 $50\mu\text{l}$ 로 한다. 초기 변성은 94°C 에서 3분간, 시발체 결합반응은 62°C 30초, 연장반응은 72°C 30초, 변성은 75°C 30초로 하여 35회 시행한 후 마지막 연장반응으로 72°C 7분간 시행하였다.

PCR 시행후 PCR product $13\mu\text{l}$, Cac8I(New England BioLabs Inc., MA, USA) $0.5\mu\text{l}$ (2U) 와 $10\times$ Buffer $1.5\mu\text{l}$ 로 최종양을 $15\mu\text{l}$ 로 하여 37°C 에서 1시간 30분간 반응시킨 후 2% agarose gel에 전기 영동하여 band를 확인하여 homzygous, heterozygous, 및 null type의 유형을 판별하였다.

3. 자료분석 방법

GST 유전자 다형성에 따른 소아 ALL 환자의 발생 위험도의 분석은 conditional logistic regression 방법을 사용하였다.

III. 결과

GSTM1, *GSTT1*에 대한 PCR 결과는 Fig. 1., *GSTP1* 105 codon에 대한 결과는 Fig. 2. 와 같다.

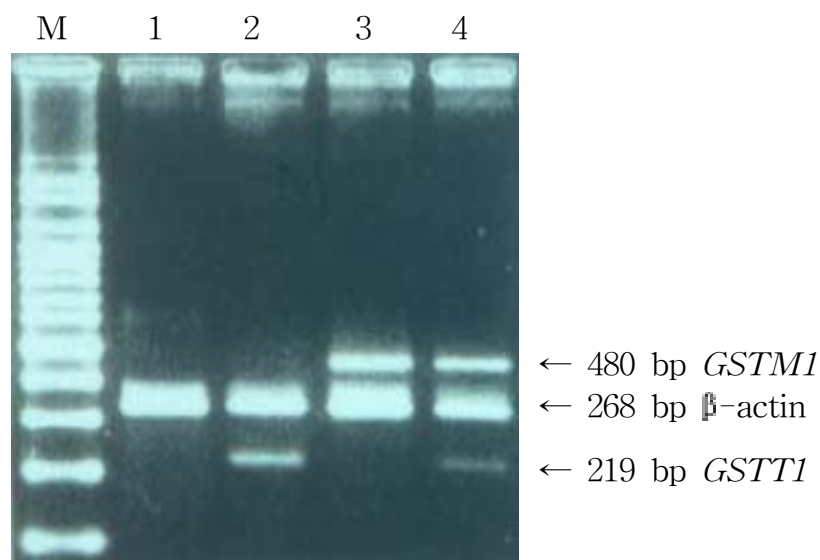


Fig. 1. Genotype analyses of *GSTM1* and *GSTT1*. Agarose gel electrophoresis of PCR products from a multiplex PCR experiment for simultaneous assessment of *GSTM1* and *GSTT1* status. The PCR products amplified from the *GSTM1* and *GSTT1* loci are 219 bp and 480 bp in size, respectively. A 268 bp fragment from the β -globin locus was coamplified for internal control purposes. Lane 1 shows an individual with a homozygous deletion of *GSTM1* and *GSTT1*. Lane 2 shows an individual in which *GSTM1* can be detected but *GSTT1* is homozygously deleted. In lane 3, *GSTM1* is absent while a PCR product from the *GSTT1* locus can be detected. In lane 4, both *GSTM1* and *GSTT1* are present. M: DNA size standard.

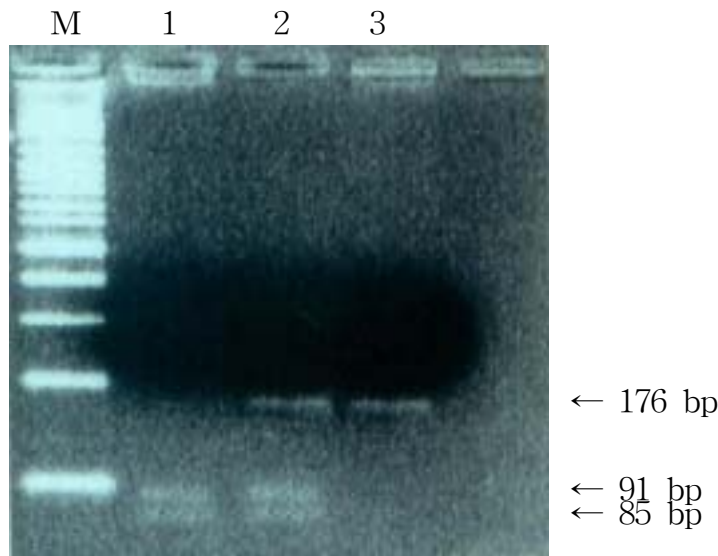


Fig. 2. Genotype analyses of *GSTP1* 105 codon. Detection of *GSTP1* codon 105 genotypes by agarose gel electrophoresis of PCR products after digestion with the restriction endonucleases BsmAI. The sequence polymorphism at *GSTP1* codon 105 creates a restriction site for BsmAI within the resulting 176 bp PCR product, leading to the generation of 2 fragments of 91 bp and 85 bp, respectively. Thus, in individuals homozygous for this polymorphism(Val₁₀₅/Val₁₀₅) the 176 bp PCR product is completely digested into 2 fragments(lane 1). Lane 2 displays a heterozygous individual (Ile₁₀₅/Val₁₀₅), and in lane 3 an individual homozygous for the Ile₁₀₅-coding allele is shown. M: DNA size standard.

총 26명의 소아 ALL 환자 중 *GSTM1* null type은 18명으로 69.2% 였으며, *GSTT1* null type은 10명으로 38.5%를 차지하였다. 이중 *GSTM1* 및 *GSTT1*에서 모두 null type을 보인 경우는 6명으로 23%를 차지하였다. 정상 대조군에서는 총 13명중 *GSTM1* null type은 6명으로 46.2%, *GSTT1* null type은 7명으로 53.8% 였으며, *GSTM1* 및 *GSTT1*에서 모두 null type을 보인 경우는 2명으로 15.4%에 해당하였다. *GSTM1* null type에서 odd ratio(OR)는 0.38(95% confidence interval, CI, 0.09-1.50)이고 *P* 값은 0.043 으로 소아 ALL에서 정상대조군에 비해 많은 것으로 나타났다. *GSTT1* null

type에서는 OR가 1.88(95% CI, 0.49-7.18; $P=0.454$)로 ALL 군에서 오히려 적은 것처럼 나타났으나, P 값이 0.454로 통계적인 의미는 없는 것으로 나타났다. *GSTP1* 105 codon의 경우 Ile/Ile, Ile/Val, Val/Val 각각 소아 ALL 환자 와 정상 대조군 사이에 큰 차이는 없었다. 하지만 Val/Val 군과 Ile/Ile 및 Ile/Val 군을 통합한 군과의 비교 시 소아 ALL군이 정상 대조군에 비해서 OR가 0.63(95% CI, 0.16-6.43; $P=0.383$)으로 약 1.6배 많은 것으로 나타났으나 P 값이 0.383으로 통계적인 의미는 없는 것으로 보인다. *GSTP1* 114 codon의 경우 Val/Val 군이 정상대조군에서 오히려 15.4%로 소아 ALL 환자의 3.8%에 비해 높았으며, Ala/Val 군과 Val/Val 군을 합하여 Ala/Ala 군과 대조해 보았을 때 소아 ALL군이 Ala/Val 및 Val/Val 군에서 OR가 2.3(95% CI, 0.39-13.42; $P=0.092$)으로 정상 대조군에 비해 오히려 적은 것으로 보이지만 P 값은 0.092로 통계적인 의미가 없는 것으로 사료된다.

Table 1. Distribution of *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* genotypes in ALL

	No. of Subjects and Prevalence (%)		OR(95% CI)	P Value
	Cases	Controls		
<i>GSTM1</i>				
Present	8(30.8)	7(53.8)	1.00*	0.043
Null	18(69.2)	6(46.2)	0.38(0.09-1.50)	
<i>GSTT1</i>				
Present	16(61.5)	6(46.2)	1.00*	0.454
Null	10(38.5)	7(53.8)	1.88(0.49-7.18)	
<i>GSTP1</i> codon 105				
Ile/Ile	1(3.8)	1(7.7)		0.383
Ile/Val	12(46.2)	4(30.8)	1.00 [†]	
Val/Val	13(50.0)	8(61.5)	0.63(0.16-2.43)	
<i>GSTP1</i> codon 114				
Ala/Ala	23(88.5)	10(76.9)	1.00 [‡]	0.092
Ala/Val	2(7.7)	1(7.7)	2.3(0.39-13.42)	
Val/Val	1(3.8)	2(15.4)		

*Reference category.

[†] Reference category was a combined category of Ile₁₀₅/Ile₁₀₅ and Ile₁₀₅/Val₁₀₅ genotypes.

[‡] OR for the combined category of Ala₁₁₄/Val₁₁₄ and Val₁₁₄/Val₁₁₄ genotypes with reference to the Ala₁₁₄/Ala₁₁₄ category.

OR: Odds ratio; CI: confidence interval.

IV. 고찰

이전의 연구들에서 살펴보면, GST와 백혈병과의 상관관계는 다른 결과들을 보고하고 있다.

Davis 등²³이 총 710명의 소아 ALL 환아와 733명의 정상 대조군을 비교한 Children's Cancer Group(CCG) 연구에서는 *GSTM1* 및 *GSTT1* null type은 소아 ALL의 발생에 영향을 미치지 않는다고 보고하였으며, 또한, Crump 등²⁴이 성인 급성 골수구성 백혈병(acute myeloid leukemia, AML)환자 297명을 대상으로 한 연구에 따르면, *GSTT1* null type이 AML의 발생에 영향을 미친다고 할 수 없다고 보고하였다.

이에 반해 Krajinovic 등²⁵이 St. Jude Children's Research Hospital의 소아 ALL 환자 197명 및 정상 대조군 304명을 비교한 연구에서는 *GSTM1* null type의 경우 소아 ALL의 발생위험이 더 높다고(OR, 1.8; 95% CI, 1.2-2.6; $P=0.004$) 발표하였으며, Chen 등¹⁷의 발표에 따르면 흑인의 경우 *GSTM1*과 *GSTT1*이 모두 null type인 경우가 소아 ALL 환자는 23.5%이고 정상 대조군은 3.9%로, 백인의 경우 각각 6.1%와 8.0%인 것에 비해 높다고 발표하였다.

단지, 이상의 연구들에서는 동양인이 포함된 경우는 없으며, Davis 등²³의 연구에서만 6명의 동양인이 포함되어있을 뿐으로, 위의 연구들이 동양계를 대별할 수는 없는 것으로 사료된다.

본 연구결과를 보면 *GSTMI* null type이 소아 ALL에서 정상 대조군에 비해 많은 것으로 나타났으며, 이는 Krajinovic 등²⁵의 연구와 비슷한 결과를 보이는 것으로 사료되나 Davis 등²³의 연구와는 상충되는 결과로 보여진다. 이는 아마도 인종간의 차이에 의해 발생하는 문제로 생각되어지며, Chen 등¹⁷의 발표에서 보면 *GSTMI* null type이 흑인과 백인 정상 대조군에서 각각 53.5%와 27.6%로 차이를 보이고 있으며, *GSTTI* null type도 각각 15.0%와 24.1%로 차이를 보이고 있는 결과를 보면 알 수 있듯이 GST의 다형성은 인종간에 차이를 보이고 있다.

이러한 관점에서 저자의 연구결과와 이전에 타 인종에서 시행되었던 연구결과를 비교하여 보면 Table 2. 와 같다.

특히 차이를 보이는 부분들은 *GSTMI*에서 Chen 등¹⁷과 Rollinson 등²⁶의 이전의 타 연구에서는 null type과 present type의 비가 거의 비슷한 반면에 본 연구에서는 소아 ALL 환자군에서는 3:7 정도의 비율로 null type의 *GSTMI*의 비중이 높았다.

*GSTTI*의 경우 Chen 등¹⁷과 Rollinson 등²⁶의 연구를 보면 소아 ALL이나 정상 대조군에서 present type이 높은 것을 볼 수 있는데, 본 연구를 보면 정상 대조군에서는 present type과 null type이 거의 비슷한 비율로 관찰되고 있다. 또한 *GSTPI* 105 codon의 경우 Rollinson 등²⁶의 연구결과에서는 Ile/Ile type과 Ile/Val type이 비슷한 분포를 보이고 두 대립유전자가 모두 다형성을 일으킨 Val/Val type이 가장 적은 분포를 보이며, 이는 환자군과 대조군에서 모두 비슷한 분포를 보이고 있고, 이는 Stanulla 등²⁷의 연구에서도 보여지고 있는 분포이나, 본 연구에서는 환자군과 대조군에서 모두 Val/Val type이 가장 우위를 차지하며 Ile/Ile type이 가장 적은 분포를 보이고 있다.

이러한 인종의 차이는 Lee 등²⁸이 국내 재생불량성 빈혈 환자를 대상으로 한 연구에서도 정상 대조군의 경우 *GSTT1* null type이 45.3%로 다른 연구들에 비해 좀더 높은 결과를 보여주는 것을 미루어 보더라도 알 수 있다.

Table 2. A comparative table of GSTs between previous and current study

		Stanulla et al. ²⁷	Chen et al. ¹⁷		Rollinson et al. ²⁵		Current study	
		ALL Patients(%)	ALL Patients(%)	Control Number(%)	ALL Patients(%)	Control Number(%)	ALL Patients(%)	Control Number(%)
<i>GSTM1</i>	Present		193(65.0)	246(59.1)	35(50.0)	58(51.3)	8(30.8)	7(53.8)
	Null		104(35.0)	170(40.9)	35(50.0)	55(48.7)	18(69.2)	6(46.2)
<i>GSTT1</i>	Present		342(90.7)	335(80.5)	55(78.6)	104(92.0)	16(61.5)	6(46.2)
	Null		35(9.3)	81(19.5)	15(21.4)	9(8.0)	10(38.5)	7(53.8)
<i>GSTP1</i>	Ile/Ile	65(47.1)			30(45.5)	50(44.6)	1(3.8)	1(7.7)
Codon105	Ile/Val	59(42.8)			26(39.4)	46(41.1)	12(46.2)	4(30.8)
	Val/Val	14(10.1)			10(15.1)	16(14.3)	13(50.0)	8(61.5)
<i>GSTP1</i>	Ala/Ala	50(64.1)					23(88.5)	10(76.9)
Codon114	Ala/Val	27(34.6)					2(7.7)	1(7.7)
	Val/Val	1(1.3)					1(3.8)	2(15.4)

GSTT1 null type의 경우에는 Krajcinovic 등²⁵의 연구에서 소아 ALL의 발생에 영향을 미치지 않는다고(OR, 0.9; 95% CI, 0.5-1.5; $P=0.80$) 보고하였다. Davis 등²¹의 연구에서도 *GSTT1* null type이 백인의 경우 소아 ALL 환자와 정상 대조군이 각각 16%씩이었으며, 흑인의 경우에 각각 28%와 17%로 인종간의 차이에 상관없이 소아 ALL 환자에서 *GSTT1* null type이 의미있게 많은 경우는 발견되지 않았다.

본 연구결과에서는 *GSTT1* null type의 경우 오히려 소아 ALL군에서 적은 것으로 나왔으나(OR, 1.88; 95% CI, 0.49-7.88; $P=0.454$) 통계적인 유의성은 발견되지 않았으며, 이러한 결과는 이전의 연구들의 결과들과 대동소이한 결과로 사료된다.

V. 결론

본 연구는 소아에서 가장 많이 발생하는 종양인 ALL에서 여러종류의 발암원을 해독하는 기능을 가진 GST유전자 다형성을 알아보고자, 세브란스 병원 소아과에서 진단받고 치료중인 ALL환자 26명과 정상 대조군에서 PCR 방법을 통해 *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1* 105 codon 및 114 codon의 다형성에 대해 알아보았다.

PCR 결과 *GSTM1* null type의 경우 정상 대조군에 비해 ALL 군에서 의미있게 높게 나타났다.

본 연구의 결과 GST 유전자의 다형성은 각 인종마다 서로 상이하게 나타날 수 있다는 것을 보여주었으며, *GSTM1* null type이 소아 ALL에서 정상 대조군에 비해 많이 나타난다고 생각된다. 하지만, 이 연구는 비교적 적은 수의 환자군 및 대조군으로 이루어진 연구로 우리나라에서 GST 유전자의 인종간 차이 및 소아 ALL의 발생에 미치는 영향 대변한다고 할 수는 없으며, 이는 좀더 많은 수의 환자군과 대조군을 포함하는 연구를 통해 극복될 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

- 1) Ketterer B. Protective role of glutathione and glutathione transferases in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat Res* 1988;202:343-61.
- 2) Raha A, Tew KD. Glutathione S-transferases. *Cancer Treat Res* 1996;87:83-122.
- 3) Hirvonen A, Nylund L, Kociba P, Husgafvel-Pursiainen K, Vainio H. Modulation of urinary mutagenicity by genetically determined carcinogen metabolism in smokers. *Carcinogenesis* 1994;15:813-5.
- 4) Nakachi K, Imai K, Hayashi S, Kawajiri K. Polymorphisms of the CYP1A1 and glutathione S-transferase genes associated with susceptibility to lung cancer in relation to cigarette dose in a Japanese population. *Cancer Res* 1993;53:2994-9.
- 5) Lafuente A, Pujol F, Carretero P, Villa JP, Cuchi A. Human glutathione S-transferase mu (GST mu) deficiency as a marker for the susceptibility to bladder and larynx cancer among smokers. *Cancer Lett* 1993;68:49-54.
- 6) Nazar-Stewart V, Motulsky AG, Eaton DL, White E, Hornung SK, Leng ZT, et al. The glutathione S-transferase mu polymorphism as a marker for susceptibility to lung carcinoma. *Cancer Res* 1993;53 Suppl:2313-8.

- 7) Lin HJ, Han CY, Bernstein DA, Hsiao W, Lin BK, Hardy S. Ethnic distribution of the glutathione transferase Mu 1-1 (GSTM1) null genotype in 1473 individuals and application to bladder cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 1994;15:1077-81.
- 8) Helzlsouer KJ, Selmin O, Huang HY, Strickland PT, Hoffman S, Alberg AJ, et al. Association between glutathione S-transferase M1, P1, and T1 genetic polymorphisms and development of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 1998;90:512-8.
- 9) Charrier J, Maugard CM, Le Mevel B, Bignon YJ. Allelotype influence at glutathione S-transferase M1 locus on breast cancer susceptibility. *Br J Cancer* 1999;79:346-53.
- 10) Ambrosone CB, Freudenheim JL, Graham S, Marshall JR, Vena JE, Brasure JR, et al. Cytochrome P4501A1 and glutathione S-transferase (M1) genetic polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk. *Cancer Res* 1995;55:3483-5.
- 11) Harada S, Misawa S, Nakamura T, Tanaka N, Ueno E, Nozoe M. Detection of GST1 gene deletion by the polymerase chain reaction and its possible correlation with stomach cancer in Japanese. *Hum Genet* 1992;90:62-4.

- 12) Welfare M, Monesola Adeokun A, Bassendine MF, Daly AK. Polymorphisms in GSTP1, GSTM1, and GSTT1 and susceptibility to colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:289-92.
- 13) Tsuchida S, Sato K. Glutathione transferases and cancer. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1992;27:337-84.
- 14) Hoban PR, Robson CN, Davies SM, Hall AG, Cattan AR, Hickson ID, et al. Reduced topoisomerase II and elevated alpha class glutathione S-transferase expression in a multidrug resistant CHO cell line highly cross-resistant to mitomycin C. *Biochem Pharmacol* 1992;43:685-93.
- 15) Chao CC, Huang YT, Ma CM, Chou WY, Lin-Chao S. Overexpression of glutathione S-transferase and elevation of thiol pools in a multidrug-resistant human colon cancer cell line. *Mol Pharmacol* 1992;41:69-75.
- 16) Smith MT, Evans CG, Doane-Setzer P, Castro VM, Tahir MK, Mannervik B. Denitrosation of 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea by class mu glutathione transferases and its role in cellular resistance in rat brain tumor cells. *Cancer Res* 1989;49:2621-5.
- 17) Chen CL, Liu Q, Pui CH, Rivera GK, Sandlund JT, Ribeiro R, et al. Higher frequency of glutathione S-transferase deletions in black children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1997;89:1701-7.

- 18) Hall AG, Autzen P, Cattan AR, Malcolm AJ, Cole M, Kernahan J, et al. Expression of mu class glutathione S-transferase correlates with event-free survival in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 1994;54:5251-4.
- 19) Pui CH. Acute lymphoblastic leukemia in children. *Curr Opin Oncol* 2000;12:3-12.
- 20) Pui CH, Evans WE. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1998;339:605-15.
- 21) Harris LW, Stubbins MJ, Forman D, Howard GCW, Wolf CR. Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis* 1997;18:641-4.
- 22) Harris MJ, Coggan M, Langton L, Wilson SR, Board PG. Polymorphism of the Pi class glutathione S-transferase in normal population and cancer patients. *Pharmacogenetics* 1998;8:27-31.
- 23) Davies SM, Bhatia S, Ross JA, Kiffmeyer WR, Gaynon PS, Radloff GA, et al. Glutathione S-transferase genotypes, genetic susceptibility, and outcome of therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2002;100:67-71.

- 24) Crump C, Chen C, Appelbaum FR, Kopecky KJ, Schwartz SM, Willman CL, Slovak ML, Weiss NS. Glutathione S-transferase theta 1 gene deletion and risk of acute myeloid leukemia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000 May;9:457-60.
- 25) Krajcinovic M, Labuda D, Richer V, Karimi S, Sinnott D. Susceptibility to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Influence of CYP1A1, CYP2D6, GSTM1, and GSTT1 Genetic Polymorphisms. *Blood* 1999;93:1496-1501.
- 26) Rollinson S, Roddam P, Kane E, Roman E, Cartwright R, Jack A, et al. Polymorphic variation within the glutathione S-transferase genes and risk of adult acute leukaemia. *Carcinogenesis* 2000;21:43-7.
- 27) Stanulla M, Schrappe M, Brechlin AM, Zimmermann M, Welte K. Polymorphisms within glutathione S-transferase genes (GSTM1, GSTT1, GSTP1) and risk of relapse in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: a case-control study. *Blood* 2000;95:1222-8.
- 28) Lee KA, Kim SH, Woo HY, Hong YJ, Cho HC. Increased frequencies of glutathione S-transferase (GSTM1 and GSTT1) gene deletions in Korean patients with acquired aplastic anemia. *Blood* 2001;98:3483-5.

Abstract

Polymorphisms within glutathione S-transferase genes in childhood acute lymphoblastic leukemia

Sung Chul, Won

Department of Medicine

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Chuhl Joo, Lyu)

Glutathione S-transferases (GSTs) are polymorphic genes. Absence of enzyme activity is due to homozygous or heterozygous deletion of the gene, reducing detoxification of carcinogens and potentially increasing cancer risk.

DNA was extracted from bone marrow aspirates of 26 acute lymphoblastic leukemia (ALL) patients and from peripheral blood of 13 controls. PCR amplification was used to assign *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* at codon 105 and 114 genotypes for cases and controls.

We investigated the polymorphisms within the *GSTM1*, *GSTT1*, and *GSTP1* genes in children with ALL. The null (absence of both alleles) genotype for *GSTM1* was 2.6-fold [odds ratio (OR), 0.38; 95% confidence interval(CI), 0.1-1.5; $P=0.043$] increased in children with ALL, whereas the frequency of *GSTT1* null genotype in ALL cases was not statistically different from controls. *GSTP1* Val₁₀₅/Val₁₀₅ genotype showed a 1.6-fold (OR, 0.63; 95% CI, 0.16-2.43; $P=0.38$) increased in ALL in comparison to the combined category of Ile₁₀₅/Val₁₀₅ and Ile₁₀₅/Ile₁₀₅ genotypes.

Current study includes small size ALL group and control group. So, present study do not represents racial differences in GST genotype and risk of pediatric ALL.

Our results suggest that polymorphisms within genes of the GST superfamily(especially *GSTM1* null type) may be increased in childhood ALL.

Key Words : glutathione S-transferase, polymorphism, acute lymphoblastic leukemia