

자궁경부암 환자에서 유전자 염기 다형성의
유전-유전, 유전-환경 상호작용에 관한 연구

The Study on Gene-Gene and Gene-
Environmental Interactions of Polymorphisms in
Cervical Cancer of Korean Women

연세대학교 대학원
보건학과
설재웅

감사의 글

학위과정 동안 삶을 돌아보고 계획하는 시간을 가졌습니다. 돌아보면 실망스러운 모습뿐이지만 여전히 사랑하는 신실하신 하나님의 은혜에 감사합니다. 오희철 선생님과 지선하 선생님과 만남을 생각할 때 더욱 하나님께 감사하게 됩니다. 앓고 싶은 스승이 있다는 것은 행복한 일입니다. 바쁘신 중에도 가난한 외국인들에게 도움의 손길을 주시는 오희철 선생님의 모습에 감동을 받습니다. 부족한 제자에게 학문의 즐거움을 알려주고 좋은 자료를 주신 지선하 선생님의 사랑에 감사합니다. 소탈하고 성실한 공무원의 본이 되시는 오대규 선생님, 열정적인 학자의 본을 보여주신 신해림 선생님, 석사과정부터 많은 가르침을 주신 이상욱 선생님의 은혜에 감사합니다. 아직은 박사학위를 받기에는 부족하지만 선생님들의 모습을 닮아가려는 노력을 통해서 다듬어지리라 생각합니다.

본 논문의 귀한 자료를 제공하신 가톨릭의과대학의 박종섭 선생님과 이성중 선생님, 학위과정동안 교실의 좋은 공간을 허락하신 서일 선생님과, 논문을 쓰는 방법과 강의요령을 지도하여 주신 남정모 선생님과, 연세 암 연구소의 라선영 선생님과, 박규현 선생님과, 이영, 신유근 선생님과 DNA link의 이종은 박사님과 김숙 선생님과, 귀한 가르침을 주신 유승훈, 정용, 김한중, 채영문, 노재훈, 신동천, 손명세, 박은철, 정우진, 강혜영, 김현창, 박종연, 이자경 선생님과 아주의대 이윤환, 이순영 선생님과, 교실 연구강사로 수고하시는 강대룡, 문기태 선생님과, 보건대학원의 이지전 선생님과, 석사과정 때 도움을 많이 주셨던 김소윤, 지영건, 이상규 선생님과, 어려울 때 조언을 주셨던 신승호, 최성호 선생님께 감사의 마음을 전합니다. 학위과정 동안 같은 방에서 도움을 주신 신선미, 김성경 선생님과, 무뚝뚝한 선배를 참아준 조어린, 주성은 선생님께도 감사합니다. 컴퓨터의 만능 해결사이면서 선배같은 후배 이민 선생님, 힘들 때 웃음을 주었던 몽골친구 바이사, 네팔친구 조시, 중국친구 지민 선생님과, 학위과정동안 겸임교수로서 강의를 할 수 있는 기회를 주신 김지윤 선생님과 안산1대학 물리치료과의 교수님과 학생들, 이번에 같이 졸업하게 되신 박정용, 임남구, 유승윤, 김상아, 박춘선 선생님께도 감사하며 축하드립니다. 교실에서 함께 했던 이대회, 이동한, 강희정,

심지선, 허남욱, 안성복, 하경수, 이선미, 김호현, 문연옥, 홍재석, 정경화, 김정인, 서정민, 이희우, 김성아, 이윤경, 성동경, 김형렬, 이후연, 염병수, 권성탁, 안진아, 유혜선, 이유정 선생님과 국민건강증진연구소의 윤지은, 김경미, 김상연, 지은정 선생님께도 감사의 마음을 전합니다.

사회에 있어야 할 시기에 학교에 남아있는 아들을 불평하지 않으시고, 지원해주신 부모님의 사랑에 감사합니다. 어머니의 희생적인 사랑이 있었기에 다른 유혹을 이길 수 있는 힘이 되었습니다. 학위과정이라는 핑계로 잘 나오지도 않는 선배를 항상 따뜻하게 맞아준 목동제일교회 청년부 후배들과 한동수 강도사님, 불성실한 고등부 교사를 인내하셨을 황태민 강도사님과 고등부 교사선생님들, 힘들 때 위로가 되어준 좋은 친구 빛나, 시집간 이후에도 오빠에게 좋은 것 하나라도 더 주려는 동생 유진과 매제 한용석씨도 감사의 마음을 전합니다.

2004. 8.

설재웅 올림

차 례

표차례	ii
그림차례	v
부록차례	vi
국문요약	vii
제 1장 서론	1
1.1 연구배경	1
1.2 연구목적	8
제 2장 연구방법	9
2.1 연구대상	9
2.2 자료수집	11
2.3 통계분석	15
제 3장 연구결과	17
3.1 연구대상자의 일반적인 특성	17
3.2 생활습관요인	19
3.3 유전자 염기다형성과 자궁경부암	22
3.4 자궁경부암과 유전-환경 상호작용	34
3.5 유전-유전 상호작용	41
제 4장 고찰	51
제 5장 요약 및 결론	60
참고문헌	63
ABSTRACT	72
부록	74

표 차 례

Table 1. Gene variables in this study.....	14
Table 2. General characteristics of study subjects	18
Table 3. Odds ratio (OR) of environmental factors on cervical cancer according to cancer stage	20
Table 4. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of tumor suppressor genes(p53, p21) on cervical cancer	24
Table 5. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of tumor suppressor genes(FHIT, RASSF1A) on cervical cancer	25
Table 6. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of metabolic pathway related genes(MTHFR, GSTP1) on cervical cancer	26
Table 7. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of immune-related genes(IRF1, TNFA) on cervical cancer	27
Table 8. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of tumor suppressor genes on invasive cervical cancer according to histological type	28
Table 9. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of susceptibility genes on invasive cervical cancer according to histological type	29
Table 10. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of immune-related genes on invasive cervical cancer according to histological type	30
Table 11. Adjusted odds ratio (OR) of tumor suppressor gene(P53, P21) gene polymorphic genotypes on cervical cancer according to age at diagnosis	31

Table 12. Adjusted odds ratio (OR) of tumor suppressor gene (FHIT, RASSF1A) gene polymorphic genotypes on cervical cancer according to age at diagnosis	32
Table 13. Adjusted odds ratio (OR) of MTHFR C677T polymorphic genotypes on cervical cancer according to age at diagnosis.....	33
Table 14. Odds ratio of joint effect for gene and environmental factors on invasive cervical cancer	35
Table 15. Odds ratio of joint effect for gene and environmental factors on invasive cervical cancer less than 40 years at diagnosis.....	36
Table 16. Odds ratio of parity and MTHFR gene-environment interaction on invasive cervical cancer less than 40 years at diagnosis.....	37
Table 17. Odds ratio of smoking and GSTP1 gene-environment interaction on invasive cervical cancer	38
Table 18. Odds ratio of joint effect between two genes on invasive cervical cancer.....	42
Table 19. Odds ratio of joint effect between tow genes on invasive cervical cancer less than 40 years at diagnosis	43
Table 20. Odds ratio of FHIT and MTHFR gene-gene interaction on squamous cell carcinoma less than 40 years at diagnosis	44
Table 21. Odds ratio of P53 and MTHFR gene-gene interaction on squamous cell carcinoma less than 40 years at diagnosis	45
Table 22. Adjusted Odds Ratios and 95% CIs for interaction between husband's smoking, P53, and MTHFR in invasive	

cervical cancer less than 40 at diagnosis.....	48
Table 23. Adjusted Odds ratios and 95% CIs for interaction between RASSF1, FHIT, and MTHFR in cervical cancer less than 40 years at diagnosis	49

그림 차례

Figure 1. The selection procedure of the study population	10
Figure 2. The framework of the study.....	16
Figure 3. Odds ratio of age at first intercourse and TNFA(-308) Gene-environment interaction on squamous cell carcinoma.....	39
Figure 4. Odds ratio of age at first intercourse and RASSF1A Gene-environment interaction on invasive cervical cancer less than 40 years	40
Figure 5. Odds ratio of MTHFR and TNFA(-308) gene-gene Interaction on squamous cell carcinoma less than 40 Years at diagnosis	46
Figure 6. Odds ratio of P53 and P21 gene-gene interaction on invasive Cervical cancer less than 40 years at diagnosis.....	47
Figure 7. Odds ratio(OR) of MTHFR, RASSF1A, FHIT gene-gene interaction on invasive cervical cancer less than 40 years at diagnosis	50

부 록 차 례

Table 1. Odds ratio of joint effect for gene and environmental factors on total cervical cancer.....	75
Table 2. Odds ratio of joint effect for gene and environmental factors on total cervical cancer less than 40 years at diagnosis.....	76
Table 3. Odds ratio of joint effect between two genes on total cervical cancer.....	77
Table 4. Odds ratio of joint effect between tow genes on total cervical cancer less than 40 years at diagnosis.....	78
Table 5. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of several genes on invasive cervical cancer among HPV positive subjects	79

국 문 요 약

자궁경부암 환자에서 유전자 염기 다형성의 유전-유전, 유전-환경 상호작용에 관한 연구

자궁경부암은 우리나라 여성에서 위암에 이어 2번째로 발생률이 높은 암이다. 자궁경부암 발생은 인 유두종 바이러스 (human papilloma virus, HPV) 감염이 위험 요인으로 알려져 있다. 그러나, HPV에 감염된 사람의 5~10%만이 자궁경부암에 걸리므로 HPV 이외의 다른 요인들(cofactors)이 있을 것으로 생각된다. 이러한 요인들로는 흡연, 출산자녀수, 이른 첫 성교 연령 등의 생활습관요인과 유전요인을 들 수 있다. 이 연구의 목적은 한국 여성 자궁경부암과 관련있는 유전자 염기 다형성(SNP)을 찾고, 각 유전자들과 기존에 알려진 자궁경부암의 생활습관 요인과의 유전-환경상호작용, 기능적으로 관련이 있는 유전자간의 유전-유전 상호작용을 분석하는 것이다.

환자군은 2000 년 10 월부터 2001 년 12 월까지 강남 성모병원을 방문한 외래환자와 입원환자 중에서 Pap smear, punch biopsy, pathologic findings 등을 통해서 자궁경부암으로 환진된 749명이고, 대조군은 동일 기간에 가톨릭의과대학 건강검진에 참여한 대상자 중에서 Pap smear 결과 정상인 사람들 717명으로 총 연구대상자는 1,466명이다. 모든 연구 대상자에게는 임상 연구 참가 동의서를 사전에 받았으며, 생활습관요인을 위한 문진표 작성을 하였다. 또한, 혈액에서 추출한 DNA로 연쇄 중합 반응 (PCR)을 이용하여 p53 codon72, p21 codon31, FHIT codon98, RASSF1A codon 133, MTHFR C677T, GSTP1, IRF-1 intron 6, TNFA(-308, -238) 유전자의 다형성을 분석하였다. 통계분석방법은 Multiple Logistic Regression (MLR)을 이용하였으며, 연구대상자의 안정성을 평가하기 위하여 하디-와인버그 평형을 평가하였다. 모든 유전자 염기 다형성에서 하디-와인버그 평형을 만족하였다.

연구대상자의 평균 연령은 대조군이 46.1세, 자궁경부암(invasive cancer) 환자가 50.3세로 환자가 조금 높았다. 자궁경부암의 생활습관요인에 있어서 첫 성교 연령이 낮을수록, 교육수준이 낮을수록, 출산자녀수가 많을수록, 본인 흡연량이 많을수록, 남편의 흡연량이 많을수록 자궁경부암의 위험이 높았다.

유전요인분석에서 p53 codon72는 40세 이후에 진단된 자궁경부암 환자의 경우 비차비가 1.7(95% CI, 0.9-3.0)의 결과를 보여서 최근의 메타분석 결과와 일치하였으나 통계적으로 유의하지는 않았다. p21 serine allele 동형접합체의 경우에 선암과는 관련이 없었고, Cervical intraepithelial neoplasia(CIN) 2에서 비차비가 2.7(95% CI, 1.3-5.6)로 통계적으로 유의하게 높았다. FHIT codon98의 경우에는 진단연령이 40세 이하인 여성에서 비차비가 2.7(95% CI, 1.4-5.8), RASSF1A codon 133의 경우에는 3.0(95% CI, 1.5-5.9), MTHFR C677T의 경우에는 1.9(95% CI, 1.2-3.2)로 통계적으로도 유의한 결과를 보였다.

유전-환경 상호작용 분석에서는 진단연령이 40세 이하인 여성에서 유전자염기 다형성이 variant type이면서 첫 성교연령이 22세 이하인 여성이 wild type이면서 첫 성교연령이 23세 이상인 여성과 비교하여서 비차비가 6~8배의 분포를 보였다. 또한, MTHFR C677T와 출산력, GSTP1과 흡연간에도 복합효과(joint effect)를 보였다.

유전-유전 상호작용 분석에서는 FHIT와 MTHFR 간에는 두 유전자가 모두 variant type인 경우에 진단연령이 40세 이하인 편평상피 세포암에 대한 비차비가 2.4의 결과를 보였고 통계적으로도 유의하였다. 또한, multiplicative model에서의 interaction term도 p-value가 0.0530으로 marginally significant 결과를 보였다. P53과 MTHFR 간에는 두 유전자가 모두 variant type인 경우에 진단연령이 40세 이하인 편평상피 세포암에 대한 비차비가 3.4의 결과를 보였고 통계적으로도 유의하였다. 그러나, multiplicative model에서의 interaction term은 p-value가 0.1130으로 통계적으로 유의하지는 않았다. P53, MTHFR, 남편흡연의 3가지를 함께 분석한 결과에서는 진단연령이 40세 이하인 환자들에서 두 유전자 모두 variant homozygote이고 남편이 20개비 이상의 흡연자인 경우에

비차비는 5.1 (95% CI, 1.8-14.3)의 결과를 보였다. MTHFR, RASSF1A, FHIT 등 주로 DNA methylation 관련 유전자들을 분석한 결과에서는 3가지 유전자 염기 다형성 모두 wild type homozygote인 여성들과 비교하여서 3가지 유전자 모두 variant type homozygote인 여성들이 40세 이전에 자궁경부암에 걸릴 위험은 4.3배 높았다.

MTHFR C677T, FHIT, RASSF1A 등은 자궁경부암과 관련이 있었다. 이러한 관련성은 진단연령이 젊은 경우에 더욱 두드러졌다. 또한, 유전-유전 복합효과에 대한 결과에서는 MTHFR C677T와 종양억제 유전자, MTHFR C677T와 면역관련 유전자 간에 복합효과가 있었다. 본 연구결과 유전-유전, 유전-환경 복합효과를 보임으로서 Falconer의 polygenic threshold 이론과 일치하는 결과라고 할 수 있다. 앞으로 이 유전자 염기다형성에 대한 지속적인 역학적인 연구와 생물학적인 기전 연구가 필요하다.

핵심되는 말: 자궁경부암, 유전-유전 상호작용, 유전-환경 상호작용, IRF-1, p21, p53, MTHFR, FHIT, RASSF1A, 유전자 염기다형성.

제 1 장 서 론

1.1 연구배경

자궁경부암은 예방이 가능한 암으로, 질병부담률이 높아 2000년 중앙암등록사업에 등록된 전체 여성 악성종양 중 10.6%를 차지하고 있고, 전체 여성 암 발생 순위 3위, 사망 순위 5위를 차지하고 있다(보건복지부, 2001). 또한, 강화, 서울, 부산, 대구 지역 암 등록사업에서 자궁경부암의 위암에 이어 2번째로 높은 암 발생률을 보였다(Parkin DM, 2002). 자궁경부암 발생은 인 유두종 바이러스(human papilloma virus, HPV) 감염 등이 자궁경부암 발생의 위험 요인으로 알려져 있다. HPV 감염은 많은 역학적, 생화학적 연구들을 통하여 가장 유력한 발암 인자이며, 여러 종류의 HPV 중에서도 HPV-16, HPV-18, HPV-58 등이 자궁경부암을 유발시킬 수 있는 생물학적 특성을 갖고 있는 고 위험 군 바이러스로서 알려져 있다(zur Hausen, 1989 ; Matthews, 2000). HPV 감염에 의한 발암 기전은 바이러스의 특정 부분인 E6, E7 단백질이 p53과 Rb와 같은 종양억제 단백질을 각각 불활성화시켜서 세포 주기의 조절 기능을 상실하여 세포는 과잉 증식하게 되며, 결과적으로 악성화 변형이 나타난다(Werness et al., 1990 ; Thomas et al., 1995). 그러나, HPV에 감염된 사람의 5~10%만이 자궁경부암이 걸린다(Ho et al., 1998). 따라서 HPV 이외의 다른 요인들(cofactors)이 있을 것으로 생각되는데, 이러한 cofactors로는 흡연, 출산자녀수, 이른 첫 성교 연령 등의 생활습관요인과 유전요인을 들 수 있다(Castellsague et al., 2003).

자궁경부암의 발생은 성생활과 밀접한 관련이 있다. 일찍 결혼했거나 성생활을 시작한 나이가 어릴수록 자궁경부암에 걸릴 확률이 높은 것으로 알려져 있다. 즉 16세 이하에서 성생활을 시작한 경우 20세 이후에 성생활을 시작한 경우보다 자궁경부암에 걸릴 확률이 2배 이상 높은 것으로 알려져 있다. 성관계를 가지는 남자 상대의 수도 관련이 있다. 성관계를 가지는 남자의 수가 많을수록 자궁경부암의 발생 위험이 증가한다(Schiffman et al., 1996). 출산자녀수와 자궁경부암과의 관련성은 대부분의 연구에서 발견되었다. HPV 양성인 여성만을

대상으로 한 연구들에서도 관련성을 보고하였다. IARC-pooled analysis에서도 7명 이상의 자녀를 가진 여성들은 자녀가 없는 여성에 비하여 자궁경부암의 위험이 4배나 높았다(Munoz et al., 2002). 출산자녀수와 자궁경부암과의 관련성에 관한 가능한 기전은 영양기전, 호르몬기전, 외상기전, 면역기전 등이 가능하다. 이 중에서 경구피임약과 자궁경부암과의 관련성도 일치하는 호르몬기전이 가장 설득력이 있다. 또한, 임신시의 호르몬의 변화가 HPV에 대한 면역반응(immune response)에 영향을 줄 가능성도 있다(Sethi et al., 1998).

흡연과 자궁경부암에 관한 연구들에서는 흡연자에서 자궁경부암의 위험이 2~5배 정도 높은 것으로 보고되었다. 또한, 흡연량이나 흡연기간과도 관련성을 보였다(Castle et al., 2002). 그러나 일부 연구에서는 흡연이 HPV 노출 이후의 시간의 대리지표로서 residual confounding의 가능성도 제시하였다(Castellsague et al., 2003). 그러나, 흡연자의 자궁경부 점막에서 니코틴과 같은 담배의 발암성분이 검출되었다는 연구를 통해서 흡연과 HPV 감염의 상승작용의 가능성이 제시되었다(Prokopczyk et al., 1997). 또한, 담배의 발암물질이 DNA damage를 직접 일으킬 수도 있다. 다른 연구들에서는 흡연이 HPV의 면역반응과 관련이 있을 것이라는 보고를 하였다(Poppe et al., 1995). 간접흡연에 노출된 여성의 자궁경부암의 위험이 더 높아졌다는 연구도 있었다(Winkelstein., 1990). 흡연의 자궁경부암의 효과는 편평상피세포암(squamous cell carcinoma)에 국한된다는 보고도 있었다(Schiffman and Brinton, 1995). 흡연이 HPV의 persistence를 증가시킬 가능성이 있다(Burger et al., 1993). 이러한 면역반응에 대한 효과는 중요한 항원보존세포인 랑게르한스 세포(Langerhans cell)의 수의 감소로 나타날 수도 있다(Barton et al., 1988). 한편, 자궁경부암에 대한 영양성분의 보호효과도 보고되었다. 이런 영양성분들로는 carotenoids, retinol, 비타민 C와 E, 그리고 엽산(folate)등이다. 또한 과일과 채소의 섭취가 자궁경부암의 위험을 줄인다는 보고도 있다. 가능한 기전으로는 HPV에 의한 DNA damage를 보호한다는 것과 HPV 감염의 지속(persistence)을 조절하는 면역기능을 향상시킨다는 두 가지 가설이 있다(Adami et al., 2002).

동일한 환경에 노출된 사람들이라도 특정 질병에 대한 감수성은 사람마다

차이를 보이는데 이는 생리적, 환경적 요인과 더불어 개인이 가지고 있는 유전적 소양, 즉 특정 질병에 대한 유전적 감수성의 차이에 의한 것이라 설명될 수 있다. 유전적 감수성에 대한 후보 인자로서 최근 가장 각광받고 있는 개념이 단일 염기 다형성(Single Nucleotide Polymorphism, SNP)이다. SNP란 동종내에서 정상적으로 2개 이상의 다른 유전자형이 존재하는 것으로서, 대개 1000개의 염기마다 하나 정도의 염기서열에서 다형성이 관찰되는 것으로 알려져 있다(Goddard et al., 2000). SNP란 특정 집단에서 정상인의 유전체 DNA상에 존재하는 염기서열 하나의 변이로서 그 빈도가 1% 이상인 것을 말하며, SNP는 이론적으로는 2,3,4개의 대립 유전자를 가질 수 있지만 사람의 경우 3개 혹은 4개의 대립 유전자를 가지는 SNP는 매우 드물다. 또한, SNP는 각 인종별로 다른 빈도를 나타낸다(노주원 등, 2000).

자궁경부암의 유전률은 22-34% 정도로 추정된다. 이는 여러 암 중에서 유전율이 높은 편에 속한다. 그리고 가족력이 있는 경우가 가족력이 없는 경우에 비하여 자궁경부암의 발생 위험이 2배 높은 것으로 보고되고 있다(Magnusson et al., 2000). 이와 관련된 유전요인들은 크게 암 억제 유전자(Tumor suppressor gene), 면역 관련 유전자(Immune-related gene), 물질 대사 관련 유전자(Metabolic pathway gene)들이 있다. 자궁경부암과 관련하여 보고되고 있는 암 억제 유전자들은 P53, P21, FHIT(fragile histidine triad gene), RASSF1A 등이 있다.

HPV E6는 P53 단백질과 E7은 Rb 단백질과 반응을 한다. HPV-16, -18과 같은 고위험군 HPV의 E6 단백질은 아미노산을 다시 사용하는 방법인 ubiquitin-단백질 분해경로를 통하여 p53 단백질을 분해한다. P53이 분해된 결과로서 세포주기로 정지시기인 G1시기의 세포는 합성기인 S시기로 진행하게 된다(박종섭, 2002). p53의 codon 72 SNP에 대해서는 아직도 논란의 여지가 많다. 자궁경부암 발생 과정에 있어서 종양 억제 유전자인 p53의 codon 72에서 SNP를 보이게 되는데, p53 Arg 유전자를 가진 여성이 p53 Pro 유전자를 가진 여성에 비해 HPV에 감염되었을 경우 자궁경부암에 더 유전적 감수성을 보인다는 보고도 있으며(Storey et al., 1998), 유전적 감수성을 나타내지 않는 연구보고도

있다(Minoguchi et al., 1998). Cyclin dependent kinase inhibitor인 p21은 p53에 의해 유도되며 (El-Deiry et al., 1993), cyclin-CDK2 또는 cyclin-CDK4 complex에 결합하여 G1에서 세포 성장을 억제하는 역할을 한다(Harper et al., 1994). p21 codon 31에서 C에서 A로 변함에 의해 단백질이 serine에서 arginine으로 변하는 SNP가 있으며, 자궁경부 발암과정에서 p21의 codon 31에서 serine을 가진 여성이 유의하게 많이 발생한다고 보고된 바 있다(Roh et al., 2001).

자궁경부암 환자에서 3번 염색체 단완에서 대립 유전자의 소실 현상이 많은 빈도로 나타나고 있다. FHIT 유전자(fragile histidine triad gene)는 이러한 3번 염색체 (3p14.2) 단완에서 발견된 종양 억제 유전자의 하나로서 최근 이 유전자의 소실이 자궁경부암뿐만 아니라 폐암, 대장암 등의 상피성 종양의 발생에도 관여하고 있음이 밝혀지고 있다. 따라서 FHIT 유전자는 암 억제 유전자의 하나로 생각되고 있으며, 특히 흡연에 감수성이 있다고 알려져 있다(Croce et al., 1999). 3번 염색체의 유전자 소실과 관련있는 또 다른 유전자는 RASSF1A로서 3p21.3에 위치해 있으며, 여러 암에서 유전자 소실과 promoter 부위의 hypermethylation이 보고되면서 암 억제 유전자로 추정된다. 이 유전자의 유전자 염기 다형성(SNP)으로 자주 보고되는 것은 codon 21과 codon 133이다(Yu et al., 2003). 그러나, 이 SNP와 자궁경부암과의 관련성을 보기 위한 대규모 환자-대조군 연구는 많지 않았다.

MTHFR(methylenetetrahydrofolate reductase)은 1p36.3 염색체상 위치하는 유전자로 5,10-methylenetetrahydrofolate를 5-methyltetrahydrofolate로 전환시키면서, 이 메틸기가 호모시스테인에 제공되어 메티오닌을 합성하는 대사과정에 관여한다. 이 유전자의 C677T 염기 다형성(SNP)은 아미노산 alanine (A)이 valine (V)으로 변하여, 효소의 활성을 떨어뜨린다. 그 결과 호모시스테인이 메티오닌으로 전환되지 못하여 생긴 과량의 호모시스테인이 체내에 축적된다(Fodinger et al., 2001). 그리고 메티오닌 합성의 저하, DNA methylation, dTMT 합성 등에 이상을 초래하게 되어 여러 가지 혈관성 질환 및 암의 원인으로 작용한다(jakubowski et al., 2000; Matsuo et al., 2001). 암 억제

유전자(tumor suppressor genes)는 deletion이나 point mutation 때문에 그 기능을 잃을 수가 있다. 그러나 제 3의 기전으로 DNA methylation이 또한 중요하다는 많은 증거들이 있다(Versteeg, 1997; Jones and Laird, 1999). methylation은 주로 CpG island의 cytosines에서 일어나기 쉬우며, 유전자의 promoter region에 있는 CpG island에 methylation이 일어나면 그 유전자의 lack of expression과 관련이 된다. 최근의 연구에서 MTHFR C677T 염기다형성이 DNA hypomethylation과 관련이 있다는 연구가 있다(Paz et al., 2002).

담배연기에는 여러가지 발암물질이 들어있다. 이러한 담배연기의 발암물질이 체내에 들어오면 2단계를 거쳐서 대사된다. 첫 번째 단계(phase 1)는 산화(oxygenation) 과정이며 이 단계에 주로 관여하는 효소가 cytochrome P 450이다. 두 번째 단계(phase 2)는 해독(detoxification) 단계이다. 이 단계에 주로 관여하는 효소가 glutathione S-transferase(GST)이다. GST는 cytochrome 효소계를 거친 반응 중간물의 전환을 촉매하거나 친전자성 화학물의 비활성화에 의해 발암물질에 대해 보호체계를 형성한다. 또한 체내에서 생성되는 free radical을 제거함으로써 세포를 산화스트레스로부터 보호하는 역할도 담당한다. GST는 17~28 kDa의 효소로 외부물질이 체내로 들어와 제1상 반응을 거친 후 생긴 친전자성 물질에 glutathione을 결합하여 해독하는 역할을 하는데, GST계 효소는 GST- α (GSTA), GST- μ (GSTM), GST- π (GSTP), GST- θ (GSTT) 등 아형이 잘 알려져 있다(Casarett et al., 1996). GSTP1 유전자 다양성은 흡연량과 폐암과의 관련성에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 최근의 연구에서 GSTP1 GG type인 사람들은 흡연에 따른 폐암의 위험이 AA type인 사람보다 높다고 보고하였다(Miller et al., 2003).

면역관련 유전자 중에서 가장 많이 연구된 것은 human leukocyte antigen(HLAs) 유전자이다. HLA DRB1*1301 염기 다양성에서 일관되게 자궁경부암의 보호효과가 보고되었다(Hildesheim et al., 2002). 그 밖에 면역관련 유전자로서 IRF-1(Interferon regulatory factor-1)과 TNFA(Tumor necrosis factor-alpha) 유전자가 있으나 상대적으로 연구가 많지는 않았다.

IRF-1은 면역 조절인자를 조절하는 전사인자이면서, 종양억제 인자 역할을 하는 유전자로서 알려져 있다(Harada et al., 1989 & 1993). 또한, HPV E7과 결합하며, IRF-1의 전사 활성 기능이 불활성화된다는 연구 결과는 IRF-1 유전자 기능이 자궁경부암의 면역회피 기전과 관련이 있을 가능성을 짐작하게 한다(Park et al., 2000).

Tumor necrosis factor- α (TNF- α)는 역시 면역 조절인자로서 생각되며 IRF-1과 함께 암 억제 기전에 관여할 것으로 생각된다. 유전자 다양성으로 자주보고된 것은 -238과 -308이다. 최근 연구에서 -308은 자궁경부암과 관련이 없다는 보고도 있고, 자궁경부 상피내 종양(cervical dysplasia)과 관련이 있다는 보고도 있었다.

암과 유전요인에 관한 자료를 분석할 때 기타 고려할 사항으로는 암의 진단연령, 암의 진행단계, 암의 조직학적 분류 등이다. 암의 진단연령에 대해서는 일반적으로 가족력이 있는 환자(Familial cases)의 발생연령이 가족력이 없는 환자(sporadic cases)의 발생연령보다 젊다(Wang et al., 2003). Li-Fraumeni syndrome의 전형적인 가계도를 보면 40세에 진단된 유방암, 35세에 뇌암, 19세의 soft-tissue sarcoma, 32세의 유방암 등 여러 암이 발생하며 대부분 early onset의 특징을 보이고 있다. AT 환자의 경우도 대부분이 25세 이전에 암으로 사망을 한다(Malkin et al., 1994; Easton, 1994). 이러한 이유로 최근의 암과 유전요인에 관한 환자-대조군 연구들의 분석에서도 진단 연령에 따라서 층화분석을 하는 연구가 많다(Liang et al., 2003). 또한, 진단연령에 따라서 관여하는 유전자가 다른 경우도 있다. 가족력이 있는 유방암 환자에서 10배에서 20배까지의 관련성을 보인 BRCA1과 BRCA2의 경우도 주로 진단연령이 젊은 군에서만 관련을 보였다(Castilla et al., 1994). 한편 알츠하이머병(Alzheimer's disease)의 경우에는 진단연령이 빠른군(early onset)에서는 21번 염색체의 APP 유전자 등이 관련 있었으나, 진단연령이 65세 이후로 늦은 군(late onset)에서는 APOE(Apolipoprotein E) 유전자와 관련이 있어서 진단연령에 따라서 관여하는 유전자가 다르다(Meyer et al., 1998).

자궁경부암은 잠복기간이라 할 수 있는 5~15년 기간의 자궁경부암 전구

병소의 상태로부터 진행된다. 전구 병소는 의학적으로 자궁경부 상피이형증(dysplasia) 또는 자궁경부 상피내암(carcinoma in situ)으로 불리며, 자궁경부 상피층의 국한된 부분에 형태적으로는 이미 암세포들로 변환 조직으로 치환된 경우를 말한다. 이 경우는 악성 암으로 분류되지 않고 비침윤암인 자궁경부암 0기로 표현되며, 임상적으로는 자궁경부의 국소질환으로 인식되나 일단 병소가 자궁경부 상피층을 뚫고 피하조직으로 퍼지는 시기가 되면 자궁경부암이라는 진단 아래 암세포의 주위 조직에 파급된 정도에 따른 질환의 진행 정도에 따라 광범위 근치적 자궁경부암 수술, 방사선 치료 및 항암화학요법을 받게 된다(박중섭, 2002). 이러한 암의 진행 단계에 따라서도 관여하는 유전자가 다를 수 있는데 그 대표적인 예가 대장직장암의 경우이다. 대장직장암의 경우 APC(adenomatous polyposis coli) 유전자가 주로 암의 개시(initiation) 단계에서 작용하고 P53 유전자는 주로 암의 진행(progression) 단계에서 작용한다(Fearon and Vogelstein, 1990).

1.2 연구 목적

이 연구는 한국 여성 자궁경부암과 관련있는 유전자 염기 다형성(SNP)을 찾기 위해서 시행되었다. 자궁경부암과 관련있을 것으로 추정되는 후보유전자군은 암억제유전자, 대사관련 유전자, 면역관련 유전자이다. 각각의 유전자 염기 다형성과 자궁경부암과의 관계를 분석하고, 각 유전자들과 기존에 알려진 자궁경부암의 환경(생활습관) 요인과의 유전-환경상호작용, 유전자의 기능이 같거나 관련되어 있는 유전자간의 유전-유전 상호작용을 분석할 것이다.

이 연구의 구체적인 세부 목적은 다음과 같다.

첫째, 자궁경부암과 관련있는 유전자 염기 다형성(SNP)을 분석한다. 분석을 할 때에는 진단연령, 암의 진행단계, 조직학적 분류 등에 따라서 층화분석을 한다.

둘째, 유전자 염기 다양성과 기존에 알려진 자궁경부암의 환경(생활습관) 요인과의 유전-환경 상호작용을 분석한다.

셋째, 기능적으로 관련이 있는 유전자 염기 다형성간에 유전-유전 상호작용을 분석한다.

제 2 장 연구방법

2.1 연구대상

환자군은 2000 년 10 월부터 2001 년 12 월까지 가톨릭대학교 의과대학 강남 성모병원을 방문한 외래환자와 입원환자 중에서 Pap smear, punch biopsy, pathologic findings 등을 통해서 자궁경부암으로 환진된 749명을 대상으로 하였다. 환자군은 Bethesda 자궁경부 세포조직학적 진단에 의해 분류하여, 첫번째 군은 HPV 감염 상태나 경증 자궁경부 상피이형증으로 진단된 LSIL (low-grade squamous intraepithelial lesion) 환자로 구성하였으며, 둘째 군은 중등도 이상 자궁경부 상피이형증과 자궁경부 상피내암으로 진단된 HSIL (high-grade squamous intraepithelial lesion) 환자, 세 번째 군은 침윤성 자궁경부암 환자를 대상으로 하였다.

대조군은 가톨릭의과대학 건강검진에 참여한 대상자 중에서 Pap smear 결과 정상인 사람들로써 총 717명이 참여하였다. 1508명 중에서 교육수준과 자궁경부암 진단일자, 조직학적 분류 등의 변수가 없는 42명을 제외하여 기본 모델의 최종 대상자는 대조군 717명, 환자군 749명으로 총 1466명이었다(Figure 1). 전체 환자군 749명 중 CIN1이 89명, CIN2,3가 289명, 침윤성 자궁경부암(invasive cervical cancer) 환자가 371명이었다. 침윤성 자궁경부암 환자에서도 편평상피세포암(squamous cell carcinoma)가 320명, 선암(adenocarcinoma)가 51명이었다. 또한, 각각의 유전자 염기 다형성(SNP)마다 자료가 없는 것을 분석에서 제외한 것을 모델 1로 하였다. 모델 1에서 첫 성교연령, 출산자녀수, 본인흡연 등의 결측값을 제외한 것이 모델 2의 대상자이다.

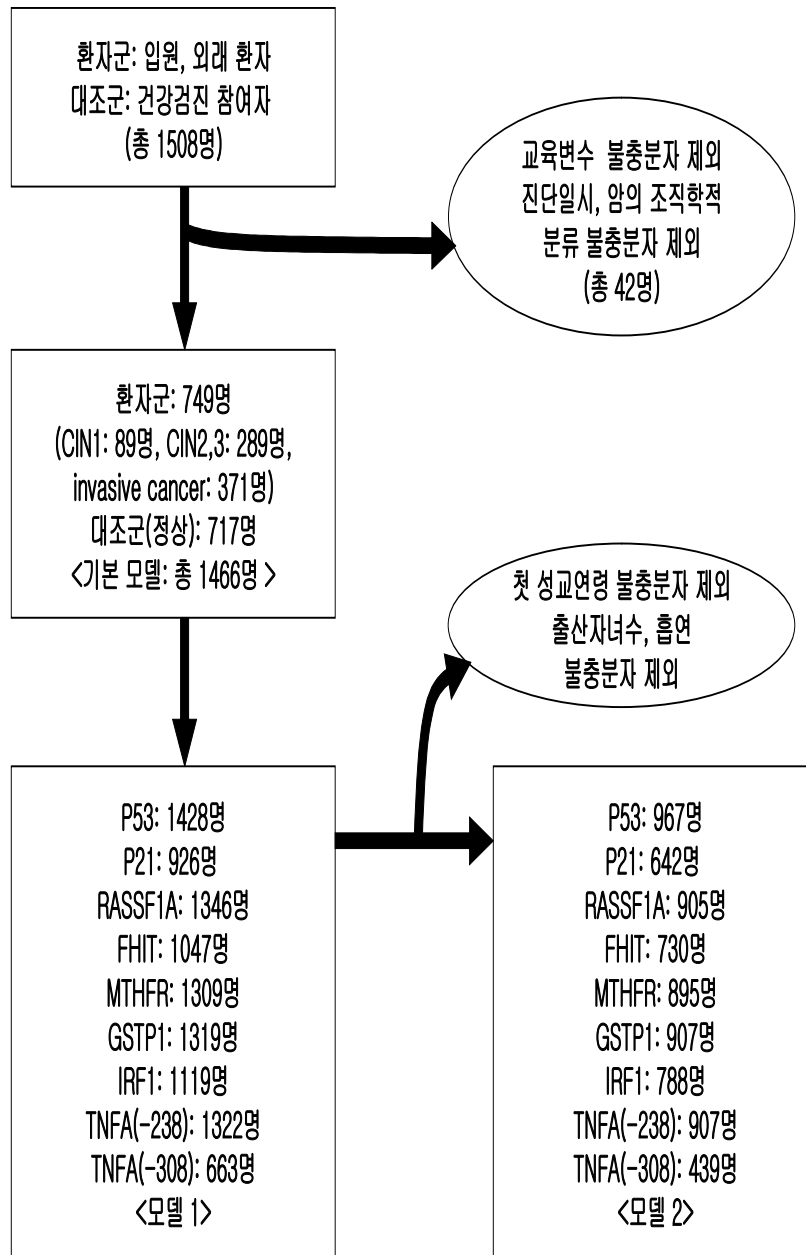


Figure 1. The selection procedure of the study population

2.2 자료수집

연구 대상 여성들에게는 임상 연구 참가 동의서를 사전에 받았으며, 이름, 생년월일, 주소, 전화번호, 출생지, 키, 몸무게, 혈액형, 집안의 자궁경부암 환자의 유무, 교육 정도, 초경 시기, 최초 성교시기, 첫 출산시기, 출산 자녀수, 기타 병력, 폐경 유무, 경구 피임약 복용, 커피, 흡연 유무를 파악하는 문진표를 작성하였다. HPV 감염 유무, 조직 병리 검사 결과, 치료 형태, 재발 유무는 병력지를 통하여 기록하였고, 키와 몸무게를 통하여 체표면적을 조사하였다.

첫 성교 연령은 22세이하, 23세에서 25세 이하, 26세 이상의 세 군으로 분류하였다. 어머니와 자매 및 딸이 자궁경부암을 가지고 있었던 경우를 가족력이 있는 것으로 간주하였다. 본인 흡연은 비흡연, 10개피 이하 흡연, 10개피 이상 흡연으로 구분하였고, 상호작용 분석에서는 비흡연과 흡연의 두 군으로 분석하였다. 남편 흡연의 경우는 비흡연, 20개피 미만 흡연, 20개피 이상 흡연으로 구분하였고, 상호작용을 분석할 때는 비흡연 및 20개피 이하 흡연군과 20개피 이상 흡연군의 두 군으로 분석하였다.

모든 연구 대상자의 말초 혈액을 채취하였다. 전날 밤 금식을 원칙으로 하였으며 오전 8시부터 11시 사이에 정와 자세를 취한 뒤 25 ml를 채취하였다. 백혈구 분리와 유전자 검사를 위해 혈액 채취 후 2시간 이내에 2500 G, 15분간 원심분리 시킨 뒤에 EDTA bottle에 보관하였다. 보관된 말초 혈액에서 백혈구를 분리한 후 B-lymphocyte에 Epstein-Barr virus를 감염시켜서 불멸화 세포주를 만들어서 백혈구 세포주 은행을 구축하였으며, DNA를 추출하여 p53, p21, FHIT, RASSF1A, MTHFR, GSTP1, IRF-1, TNFA 유전자의 다형성을 분석하였다. 혈액에서 추출한 DNA로 연쇄 중합 반응 (PCR)을 이용하여 p53, p21, FHIT, RASSF1A, MTHFR, GSTP1, IRF-1, TNFA 유전자의 특정 부위를 증폭시키기 위하여 사용된 primer는 아래와 같다.

p53-R72P-5 : CCTCTGACTGCTCTTTTCAC (Forward)
 p53-R72P-3 : ATTGAAGTCTCATGGAAGCC (Reverse)
 p21-S31R-5 : AGAACCCATGCGGCAGCAA (Forward)
 p21-S31R-3 : AAGTCGAAGTTCCATCGCTCACG (Reverse)
 FHIT-M1T-5 : TGTACATTTTCAGCACGTTTCACG (Forward)
 FHIT-M1T-3 : ACCGACAGTCCCCGTCATC (Reverse)
 RASSF1A-A63S-5 : CCTGTGTCCATGCTGGCC (Forward)
 RASSF1A-A63S-3 : TTAAGTCTTGCGCCACC (Reverse)
 MTHFR-A222V-5 : CGAAGCAAGGAGCTTTGAGGCT (Forward)
 MTHFR-A222V-3 : AGGACGGTGCGGTGAGAGTG (Reverse)
 GSTP1-I105V-5 : GGTGGACATGGTGAATGACG (Forward)
 GSTP1-I105V-3 : GGCACAAGAAGCCCCTTTC (Reverse)
 IRF-1.7-5 : CCTTGACCTGTGGCTTCTGC (Forward)
 IRF-1.7-3 : CAGCAGGCCAGGCCCCAG (Reverse)
 TNFA-(-238)-5 : TCCTACACACAAATCAGTCAG (Forward)
 TNFA-(-238)-3 : AAAGTTGGGGACACACAAGC (Reverse)
 TNFA-(-308)-5 : ACCTGGTCCCCAAAAGAAAT (Forward)
 TNFA-(-308)-3 : CTGACTGATTTGTGTGTAGGACCC (Reverse)

Shrimp alkaline phosphatase & exonuclease를 이용하여 정제하고, ABI prism BigDye terminator cycle sequence ready reaction kit (Applied Biosystems, Foster City, California)를 사용한 후, 3700 DNA 유전자 분석기 (3700 DNA Genetic Analyser: Applied Biosystems)를 이용하여 염기서열을 초고속 자동 분석을 하였다. 즉, SNP 분석은 SNaPshot assay를 이용하였으며, 일정 길이의 PCR product를 형광으로 label된 dideoxy nucleotide 존재에서 SNP 바로 앞까지 불도록 design된 primer를 이용하여 PCR을 시행하였다. 하나의 nucleotide를 extension하는 기술을 이용하여 SNP를 찾아내는 방법이다.

Genotyping primer로 아래와 같은 것을 사용하였다.

p53 : TGCCAGAGGCTGCTCCCC (18F)
p21 : CCCAGTGGACAGCGAGCAGCTGAG(24R)
FHIT : GTCTCCAGCCTTCCTGGGAAGAAC
RASSF1A : ACACCTGACCTTTCTCAA
MTHFR: AGAAGGTGTCTGCGGGAG
GSTP1: GTGGAGGACCTCCGCTGCAAATAC
IRF-1 : CCAGTCGGGGAGAGTGCTGCTGACAGCACA(30R)
TNFA(-238) : GGCCCAGAAGACCCCCCTCGGAATC
TNFA(-308) : GAGGCAATAGGTTTTGAGGGGCATG

PCR program은 96 °C에서 10 초, 50 °C에서 5 초, 60 °C에서 30 초 동안 25 cycles 시행했다. 증폭된 산물은 다시 한번 enzyme (shrimp-alkaline phosphatase)을 이용하여 순수하게 분리했다. 분리된 product는 formamide와 섞어 ABI Prism 310이나 3700 분석기에서 치환된 염기를 extension된 single nucleotide peak로서 관찰할 수 있다. 특히, IRF-1의 경우는 알려진 SNP가 없었다. 따라서 IRF1의 exon, intron을 찾고 각 exon별로 PCR을 해서 unknown mutation을 detection하기 위하여 DHPLC를 이용하여 실험을 수행하였다. DHPLC 분석 결과 Abnormal form이 Exon7에서 나왔고 이를 확인(confirm)하기 위해 Sequencing을 수행한 결과 intron 6-7과 Pro185에서 SNP가 있는 것으로 확인 되었다. 이 두 point는 SNaPshot을 통해 두 site가 linkage 되어 있는 것을 확인하였다. 연구에 사용된 유전자 염기 다양성의 위치와 기능을 정리하면 Table 1과 같다.

Table 1. Gene variables in this study

Gene	Location	Gene Function	SNP
P53	17p13.1	Tumor suppressor, cell cycle	R72P
P21	6p21.2	Tumor suppressor, cell cycle	S31R
FHIT	3p14.2	Tumor suppressor	M1T
RASSF1A	3P21.3	Tumor suppressor	A63S
MTHFR	1P36.3	Homocysteine level, DNA metylation	A222V
GSTP1	11q13	Susceptibility to carcinogen from smoking	I105V
IRF-1	5q31.1	Immune modulator, tumor suppressor, TNF stimulation	IVS6-7
TNFA	6p21.3	Immune modulator	-238 -308

2.3 통계분석

PCR 을 이용하여 p53, p21, FHIT, RASSF1A, MTHFR, GSTP1, IRF-1, TNFA 의 특이 염기서열을 정한 후 환자의 혈액에서 채취한 DNA 에서 SNP 상태를 대조군과 비교하였다. p53, p21, FHIT, RASSF1A, MTHFR, GSTP1, IRF-1, TNFA 의 유전자 염기 다형성과 자궁경부암과의 관련성을 분석하는 통계 program 은 윈도우 버전 8.1 (package SAS for windows, version 8.1)을 사용하였으며, P 값은 양측 검정으로 계산하였다. 환자군과 대조군의 나이, 키, 몸무게, 교육, 초경 연령, 첫 성교 연령, 자녀수와 자궁경부암 발생과의 관련 여부를 분석하기 위해 분산분석, 카이제곱 분석을 이용하였다. 환경 요소와 유전자를 각각 분석하였고, 환경 요소와 유전자간의 상호 작용을 독립적으로 파악하기 위해 Multiple Logistic Regression (MLR) 분석을 사용하였다. 모델 1 은 연령과 교육수준을 통제하였고, 모델 2 는 연령, 교육수준, 출산자녀수, 첫 성교시 연령, 흡연력을 통제하였다. HPV 감염과 상피이형증의 초기 단계, 중증 상피이형증과 상피내암으로 이행 단계와 자궁경부암으로 진행되는 과정에서 유전적인 요소가 영향을 미치는 여부를 알기 위해 LSIL, HSIL, 자궁경부암 군에 대해 각각에 대하여 MLR 분석을 시도하였다. 유전-환경 상호작용, 유전-유전 상호작용 분석은 각 유전자 기능과 환경요인들이 자궁경부암에 미치는 생물학적 기전을 고려하여 최종 분석 모델을 만들었다. 연구의 최종 분석모형은 Figure 2 와 같다. 또한, 암의 진단 연령에 따른 층화분석은 진단연령이 40 세 미만인 군과 40 세 이상인 군으로 나누어 분석하였다. 진단 연령이 40 세 미만인 군은 전체 환자군에서 45%, 자궁경부암(invasive cervical cancer) 환자의 30%에 해당하였다.

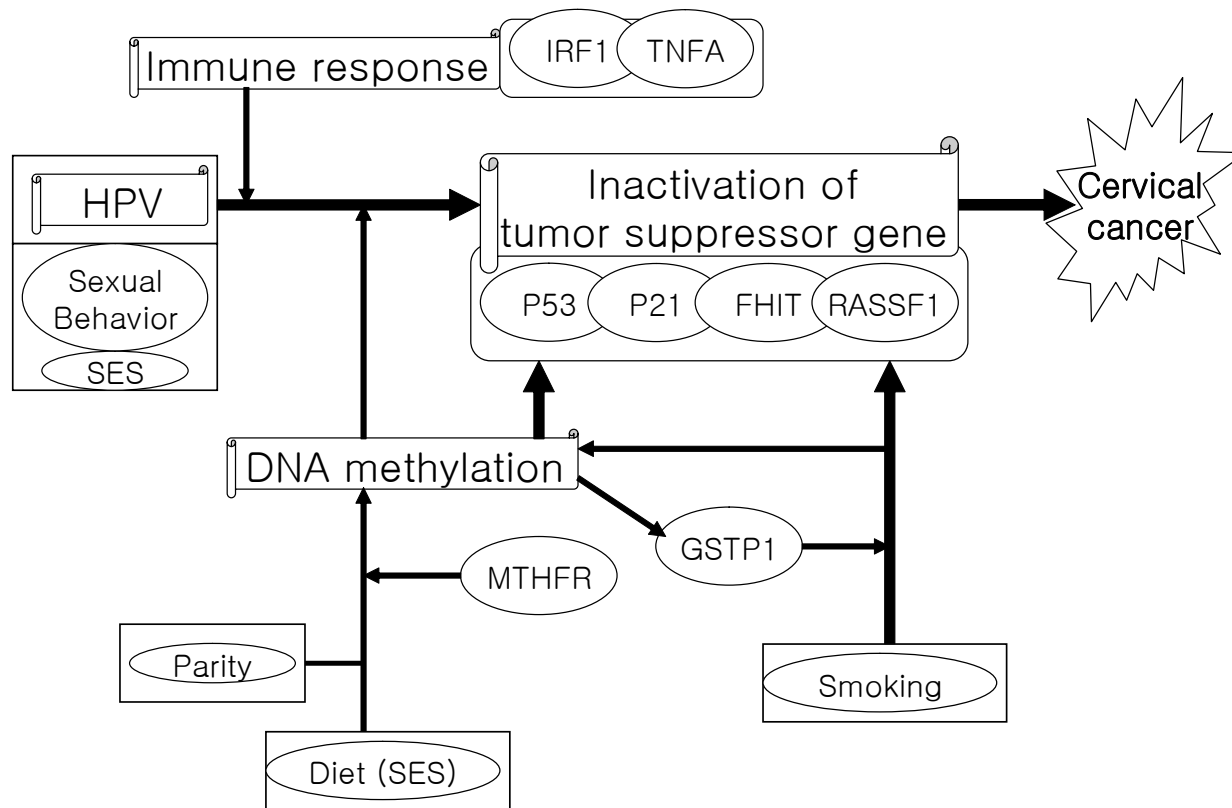


Figure 2. The Framework of the Study

제 3 장 연구결과

3.1 연구대상자의 일반적인 특성

Table 2는 분석대상자의 일반적인 특성이다. 대조군 717명, 환자군 749명(CIN1: 89명, CIN2,3: 289명, invasive cervical cancer: 371명)으로 총 1466명이 분석에 포함되었다. 평균 연령은 대조군이 46.1세, 자궁경부암 (invasive cancer) 환자군이 50.3세로 환자군이 조금 높았다. 체중, 체질량 지수, 출산자녀수, 흡연력, 남편 흡연력, 경구피임약 복용여부, 인공유산 경험율은 모두 환자군이 대조군보다 높았다. 반면, 교육수준, 첫 성교연령 등은 환자군이 대조군에 비하여 낮았다.

Table 2. General characteristics of study subjects

Characteristics	Controls (N=717)		Cases (N=749)						F-value	P-value
	Mean	SD ^b	CIN ^a I (N=89)		CIN II, III (N=289)		Invasive cancer(N=371)			
			Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
Age, year	46.1	10.4	39.0	8.9	43.3	9.9	50.3	11.1	40.4	<0.0001
Height, cm	158.2	4.9	159.7	4.3	158.8	4.5	157.1	4.9	11.2	<0.0001
Weight, kg	56.8	8.2	54.0	6.8	55.8	6.6	57.9	8.4	6.1	0.0004
Body mass index, kg/m ²	22.7	3.1	21.5	2.5	22.2	2.6	23.5	3.3	14.9	<0.0001
Education, year	12.1	3.3	12.6	2.5	11.5	3.5	9.8	4.0	40.7	<0.0001
Menarche, year	15.5	1.7	15.0	1.8	15.4	1.7	15.8	1.7	6.0	0.0004
First intercourse, year	24.7	3.4	22.9	2.9	23.6	3.0	22.6	3.1	33.7	<0.0001
Number of children	2.2	1.1	1.7	1.1	2.2	1.2	2.7	1.4	24.2	<0.0001
	N	%	N	%	N	%	N	%	X ² -value	P-value
Ever smoking history	23	4.0	6	8.0	26	11.1	28	9.4	16.6	0.0008
Husband's smoking (≥20)	188	34.3	30	40.0	114	48.3	142	50.5	25.7	<0.0001
Family history	55	7.8	5	5.9	28	9.9	34	9.3	2.1	0.5419
Menopausal status	262	55.2	10	15.6	124	61.1	275	92.0	184.4	<0.0001
Oral contraceptive use	80	18.8	16	24.2	49	29.2	54	27.3	9.8	0.0203
Partus caesareus	86	14.8	14	15.9	35	12.3	332	8.5	8.9	0.0301
Artificial abortion	367	64.7	56	36.6	198	70.2	91	74.7	11.6	0.0090

^a CIN: Cervical intraepithelial neoplasia.^b SD: Standard deviation

3.2 생활습관요인

첫 성교연령이 22세 이하인 여성이 26세 이상인 여성에 비하여 자궁경부암에 걸릴 위험이 4.6배 높았다. 교육수준이 6년 이하인 여성이 교육수준이 13년 이상인 여성에 비하여 자궁경부암의 위험이 5.6배 높았다. 출산자녀수의 경우에는 자녀수가 4명 이상인 여성이 자녀수가 1명 이하인 여성에 비하여 자궁경부암의 위험이 2.4배 높았다. 인공유산의 경우에는 인공유산경험이 3번 이상인 여성이 인공유산의 경험이 없는 여성에 비하여서 CIN1의 위험이 2.5배 높았다. 또한 본인의 흡연이 하루에 10개피 이상인 여성이 비흡연자에 비하여 자궁경부암의 위험이 4.6배, 남편 흡연의 경우는 비흡연자와 비교하여서 하루 20개피 이상 흡연하는 남편이 있는 경우에 자궁경부암의 위험이 2.1배 높은 결과를 보였다 (Table 3).

Table 3. Odds ratio (OR) of environmental factors on cervical cancer according to cancer stage^a

Variables and Categories	Control				Case					
	N	CIN ^b I			CIN II or III			Invasive cancer		
	N	N	OR (95% CI) ^c	P-value	N	OR (95% CI)	P-value	N	OR (95% CI)	P-value
Age at first intercourse(year)										
26≤ Age	214	18	1.0(Reference)		59	1.0(Reference)		61	1.0(Reference)	
23≤ Age≤ 25	230	23	1.5(0.8-2.9)	0.2442	105	1.8(1.3-2.7)	0.0018	105	1.6(1.1-2.2)	0.0193
Age≤ 22	121	29	3.6(1.8-7.0)	0.0002	87	3.1(2.0-4.6)	<0.0001	173	4.6(3.2-6.7)	<0.0001
Age at menarche(year)										
Age≤ 14	207	34	1.0(Reference)		101	1.0(Reference)		107	1.0(Reference)	
15≤ Age≤ 16	303	35	1.1(0.6-1.9)	0.7618	112	0.9(0.6-1.3)	0.5424	128	0.7(0.5-0.9)	0.0200
17≤ Age	165	20	1.8(0.9-3.6)	0.0840	74	1.3(0.9-2.0)	0.1933	132	1.1(0.7-1.5)	0.7154
Education(year)										
13≤ year	296	39	1.0(Reference)		90	1.0(Reference)		59	1.0(Reference)	
7 – 12	345	47	1.3(0.8-2.1)	0.2532	162	1.7(1.3-2.3)	0.0005	207	2.9(2.1-4.0)	<0.0001
year≤ 6	76	3	0.8(0.2-2.7)	0.6870	37	2.6(1.6-4.4)	0.0002	105	5.6(3.6-8.7)	<0.0001
Oral contraceptives use										
No	345	50	1.0(Reference)		119	1.0(Reference)		144	1.0(Reference)	
Yes	80	16	1.6(0.8-3.1)	0.1519	49	1.9(1.2-2.9)	0.0029	54	1.6(1.1-2.4)	0.0217
Family history										
No	647	80	1.0(Reference)		255	1.0(Reference)		332	1.0(Reference)	
Yes	55	5	0.5(0.2-1.4)	0.2232	28	1.2(0.7-1.9)	0.5553	34	1.3(0.8-2.1)	0.2298

^a Adjusted for age ^b CIN: Cervical intraepithelial neoplasia. ^c CI: Confidence interval

Table 3. Continued

Variables and Categories	Control				Case					
	N	CIN ^b I			CIN II or III			Invasive cancer		
		N	OR (95% CI) ^c	P-value	N	OR (95% CI)	P-value	N	OR (95% CI)	P-value
No. of children										
0 ≤ No. ≤ 1	121	28	1.0(Reference)		62	1.0(Reference)		48	1.0(Reference)	
2 ≤ No. ≤ 3	427	58	1.3(0.7-2.4)	0.3893	192	1.3(0.9-1.9)	0.2227	234	1.2(0.8-1.8)	0.3507
4 ≤ No.	58	2	0.9(0.2-4.8)	0.9380	32	2.9(1.5-5.6)	0.0020	83	2.4(1.4-4.1)	0.0026
Partus caesareus										
No	494	74	1.0(Reference)		250	1.0(Reference)		332	1.0(Reference)	
Yes	86	14	0.9(0.5-1.7)	0.7203	35	0.7(0.4-1.0)	0.0666	31	0.6(0.4-1.0)	0.0467
Artificial abortion										
No. = 0	200	32	1.0(Reference)		84	1.0(Reference)		91	1.0(Reference)	
1 ≤ NO. ≤ 2	235	33	1.5(0.8-2.7)	0.1723	109	1.2(0.9-1.8)	0.2337	172	1.5(1.1-2.0)	0.0200
3 ≤ No.	132	23	2.5(1.3-4.8)	0.0080	89	1.9(1.3-2.9)	0.0007	97	1.3(0.9-1.9)	0.1444
Smoking(amount)										
Non-smoker	552	69	1.0(Reference)		209	1.0(Reference)		270	1.0(Reference)	
< 10 cigarettes/day	14	3	0.9(0.2-3.4)	0.8418	17	2.8(1.3-5.9)	0.0063	9	1.7(0.7-4.0)	0.2603
≥ 10 cigarettes/day	9	3	2.1(0.5-8.6)	0.3090	9	2.4(0.9-6.1)	0.0733	19	4.6(2.0-10.5)	0.0003
Husband's smoking(amount)										
Non-smoker	216	33	1.0(Reference)		54	1.0(Reference)		81	1.0(Reference)	
< 20 cigarettes/day	144	12	0.5(0.2-1.0)	0.0540	68	1.8(1.2-2.7)	0.0064	58	1.1(0.7-1.7)	0.6166
≥ 20 cigarettes/day	188	30	1.0(0.6-1.7)	0.9900	114	2.3(1.6-3.3)	<0.0001	142	2.1(1.5-2.9)	<0.0001

^a Adjusted for age ^b CIN: Cervical intraepithelial neoplasia. ^c CI: Confidence interval

3.3 유전자 염기 다형성과 자궁경부암

1) 종양억제유전자(Tumor suppressor gene)

P53 R72P의 경우는 자궁경부 이형증(cervical dysplasia)에서는 관련이 없었다. 자궁경부암에서는 Odds ratio가 1.2였으나 통계적으로는 유의하지 않았다. P21 S31R의 경우에는 C allele homozygote인 경우에 A allele homozygote인 경우와 비교하여서 비차비가 2.7로 통계적으로 유의하게 높았다. FHIT M1T의 경우는 암의 진행 단계와 상관없이 C allele homozygote인 경우에 T allele homozygote인 경우와 비교하여서 높은 경향을 보였다. RASSF1A의 경우에도 G allele homozygote인 경우에 자궁경부암의 위험이 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 하디-와인버그 평형은 모든 유전자 염기 다형성에서 만족을 하였다(Table 4). 조직학적 분류로 층화하여 분석하였을 때에는 P53과 P21은 차이가 없었고, FHIT와 RASSF1A에서는 편평상피 세포암에서 더 관련성이 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았다(Table 8). 진단연령으로 나누어 분석하였을 때에는 P53과 P21은 진단연령이 40세 이후인 여성에서 자궁경부암의 위험이 더 높은 경향이 있었으나 통계적으로 유의하지는 않았다. P53의 경우에는 진단연령이 40세 이후인 여성에서의 자궁경부암의 비차비가 1.7(95%CI, 0.9-3.0)의 결과를 보였다(Table 11). FHIT의 경우에는 진단연령이 40세 이하인 여성에서 비차비가 자궁경부암 환자군에서 2.7, RASSF1A의 경우에는 3.0으로 통계적으로도 유의한 결과를 보였다(Table 12).

2) 대사관련 유전자(Metabolic pathway related gene)

MTHFR C677T의 경우에는 자궁경부암 진행 단계와 관련없이 1.3~1.5의 관련성을 보였으나 통계적으로 유의한 결과는 없었다. 한편, 연령과 교육수준만 보정하였을 때보다 첫 성교연령, 출산자녀수, 흡연력 등을 보정하였을 때에 관련성의 정도가 높아졌다. GSTP1 I105V의 경우에는 통계적으로 유의한 결과가

없었다(Table 6). 조직학적 분류로 층화하여 분석하였을 때에도 결과에 차이는 없었다(Table 9). 진단연령에 따른 분석에서는 MTHFR C677T의 경우에는 진단연령이 40세 이하인 군에서 비차비가 전체 환자군에서 1.9로 통계적으로 유의하게 높았다(Table 13).

3) 면역관련 유전자(Immune related gene)

IRF1 IVS6-7의 경우는 TT homozygote인 경우에 CC homozygote인 경우에 비하여서 비차비가 1.8의 결과를 보였으며 TNFA의 경우에는 통계적으로 유의한 관련성이 없었다. 그러나, TNFA(-308)의 경우에는 CIN1의 경우에 대조군은 87.4%가 GG homozygote인 것에 비하여서 CIN1 환자의 경우에는 100%가 GG homozygote이었다(Table 7). 조직학적인 분류로 층화하였을 때와 진단연령에 따라 층화하였을 때 모두 결과에 차이가 없었다(Table 10).

Table 4. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of tumor suppressor genes(p53, p21) on cervical cancer

Gene	Genotype	Controls				Cases					
		N	CIN ^c I		N	CIN II or III		N	Invasive cancer		
			OR ^a (95% CI) ^d	OR ^b (95% CI)		OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)		OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)	
P53 R72P											
	CC	100	14	1.0 (reference)	1.0 (reference)	40	1.0 (reference)	1.0 (reference)	43	1.0 (reference)	1.0 (reference)
	GC	322	35	0.8 (0.4-1.6)	0.8 (0.3-1.8)	132	1.0 (0.7-1.6)	1.0 (0.6-1.7)	163	1.1 (0.7-1.7)	1.2 (0.7-1.9)
	GG	283	35	0.9 (0.4-1.7)	0.8 (0.3-1.9)	108	0.9 (0.6-1.4)	0.9 (0.5-1.5)	153	1.2 (0.8-1.8)	1.2 (0.7-2.1)
	HW ^e	NS	NS			NS			NS		
P21 S31R											
	AA	109	4	1.0 (reference)	1.0 (reference)	23	1.0 (reference)	1.0 (reference)	54	1.0 (reference)	1.0 (reference)
	CA	239	22	2.1 (0.7 – 6.4)	1.7 (0.4 – 6.6)	81	1.5 (0.9 – 2.6)	2.2 (1.1 – 4.3)	129	1.1 (0.7 – 1.6)	1.0 (0.6 – 1.7)
	CC	137	4	0.7 (0.2 – 2.9)	0.5 (0.1 – 3.1)	56	2.0 (1.1 – 3.4)	2.7 (1.3 – 5.6)	68	1.0 (0.6 – 1.6)	1.0 (0.6 – 1.8)
	HW	NS	NS			NS			NS		

^a Adjusted for age and education level
smoking status

^b Adjusted for age, education level, age at first intercourse, number of children, and

^c CIN: Cervical intraepithelial neoplasia.

^d CI: Confidence interval

^e Goodness of fit to the Hardy-Weinberg equilibrium for genotype distribution (NS, not significant)

Table 5. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of tumor suppressor genes(FHIT, RASSF1A) on cervical cancer

Gene	Genotype	Controls				Cases					
		N	CIN ^c I			N	CIN II or III		N	Invasive cancer	
			OR ^a (95% CI) ^d	OR ^b (95% CI)			OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)		OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)
FHIT M1T											
	TT	209	14	1.0 (reference)	1.0 (reference)	85	1.0 (reference)	1.0 (reference)	114	1.0 (reference)	1.0 (reference)
	TC	230	24	1.7 (0.8-3.3)	2.7 (1.0-7.3)	91	1.0 (0.7-1.5)	1.2 (0.8-1.9)	139	1.1 (0.8-1.5)	1.3 (0.9-1.9)
	CC	57	6	1.7 (0.6-4.9)	5.5 (1.4-21.4)	35	1.6 (1.0-2.7)	2.0 (1.0-3.8)	43	1.4 (0.9-2.4)	1.4 (0.8-2.6)
	HW	NS	NS			NS			NS		
RASSF1 A63S											
	TT/GT	96	11	1.0 (reference)	1.0 (reference)	36	1.0 (reference)	1.0 (reference)	38	1.0 (reference)	1.0 (reference)
	GG	545	74	1.2 (0.6-2.4)	2.0 (0.7-5.5)	232	1.1 (0.7-1.7)	1.6 (0.9-3.0)	314	1.4 (0.9-2.1)	1.3 (0.8-2.1)
	HW	NS	NS			NS			NS		

^a Adjusted for age and education level
^c CIN: Cervical intraepithelial neoplasia.

^b Adjusted for age, education level, age at first intercourse, number of children, and smoking status

^d CI: Confidence interval

^e Goodness of fit to the Hardy-Weinberg equilibrium for genotype distribution (NS, not significant)

Table 6. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of metabolic pathway related genes(MTHFR, GSTP1) on cervical cancer

Gene	Genotype	Controls			Cases						
		N	CIN ^c I		N	CIN II or III		N	Invasive cancer		
			OR ^a (95% CI ^d)	OR ^b (95% CI)		OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)		OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)	
MTHFR C677T											
	CC	219	20	1.0 (reference)	1.0 (reference)	74	1.0 (reference)	1.0 (reference)	91	1.0 (reference)	1.0 (reference)
	CT	331	24	0.9 (0.5 – 1.6)	1.6 (0.7 – 3.6)	129	1.1 (0.8 – 1.6)	1.2 (0.8 – 1.9)	154	1.0 (0.7 – 1.4)	1.1 (0.7 – 1.6)
	TT	133	12	1.0 (0.5 – 2.2)	1.3 (0.5 – 3.8)	42	0.9 (0.6 – 1.4)	1.3 (0.8 – 2.3)	80	1.3 (0.9 – 1.9)	1.5 (0.9 – 2.4)
	HW ^e	NS	NS			NS			NS		
GSTP1 I105V											
	AA	455	34	1.0 (reference)	1.0 (reference)	170	1.0 (reference)	1.0 (reference)	212	1.0 (reference)	1.0 (reference)
	GA/GG	232	22	1.3 (0.7-2.3)	1.5 (0.7-3.1)	76	0.9 (0.7-1.2)	1.0 (0.7-1.5)	118	1.1 (0.8-1.5)	1.0 (0.7-1.4)
	HW	NS	NS			NS			NS		

^a Adjusted for age and education level
^c CIN: Cervical intraepithelial neoplasia.

^b Adjusted for age, education level, age at first intercourse, number of children, and smoking status

^d CI: Confidence interval

^e Goodness of fit to the Hardy-Weinberg equilibrium for genotype distribution (NS, not significant)

Table 7. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of immune-related genes (IRF1, TNFA) on cervical cancer^a

Gene	Genotype	Controls		Cases							
		N	OR ^a (95% CI) ^d	CIN ^c I		CIN II or III		Invasive cancer			
				N	OR ^a (95% CI)	N	OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)	N	OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)
IRF1 IVS6-7											
	CC	42	2	1.0 (reference)	1.0 (reference)	19	1.0 (reference)	1.0 (reference)	17	1.0 (reference)	1.0 (reference)
	TC	195	23	2.5 (0.6-11.1)	1.6 (0.3-8.0)	74	0.8 (0.5-1.5)	0.9 (0.4-2.0)	107	1.4 (0.8-2.7)	1.5 (0.7-3.2)
	TT	295	24	1.6 (0.4-7.3)	0.9 (0.2-4.8)	130	1.0 (0.5-1.8)	0.9 (0.4-1.9)	191	1.8 (1.0-3.4)	1.8 (0.9-3.8)
	HW ^e	NS	NS			NS			NS		
TNFA -238											
	AA/GA	66	4	1.0 (reference)	1.0 (reference)	31	1.0 (reference)	1.0 (reference)	27	1.0 (reference)	1.0 (reference)
	GG	628	52	1.3 (0.5-3.9)	0.9 (0.3-2.9)	214	0.7 (0.4-1.1)	0.7 (0.4-1.3)	300	1.1 (0.7-1.8)	1.2 (0.6-2.1)
	HW	NS	NS			NS			NS		
TNFA -308											
	GG	306	23	1.0 (reference)	1.0 (reference)	102	1.0 (reference)	1.0 (reference)	150	1.0 (reference)	1.0 (reference)
	AA/GA	44	0	-	-	13	0.9 (0.4-1.7)	1.0 (0.4-2.4)	25	1.3 (0.7-2.2)	1.2 (0.6-2.5)
	HW	NS	NS			NS			NS		

^a Adjusted for age and education level
^c CIN: Cervical intraepithelial neoplasia.

^b Adjusted for age, education level, age at first intercourse, number of children, and smoking status

^d CI: Confidence interval

^e Goodness of fit to the Hardy-Weinberg equilibrium for genotype distribution (NS, not significant)

Table 8. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of tumor suppressor genes on invasive cervical cancer according to histological type^a

Gene	Genotype	Controls		Invasive cancer				
		N (%)	N (%)	Adenocarcinoma		Squamous cell carcinoma		
				OR (95% CI) ^c	P-value	N (%)	OR (95% CI)	P-value
P53 R72P								
	CC	100 (14.2)	6(12.0)	1.0 (reference)		37(12.0)	1.0 (reference)	
	GC	322 (45.7)	21(42.0)	1.0(0.4-2.7)	0.9370	142(46.0)	1.1(0.7-1.7)	0.6465
	GG	283 (40.1)	23(46.0)	1.3(0.5-3.4)	0.5593	130(42.1)	1.2(0.7-1.8)	0.5392
P21 S31R								
	AA	109 (22.5)	10(24.4)	1.0 (reference)		44(21.0)	1.0 (reference)	
	CA	239 (49.3)	22(53.7)	1.0(0.5-2.3)	0.9095	107(51.0)	1.1(0.7-1.7)	0.6646
	CC	137 (28.3)	9(22.0)	0.7(0.3-1.9)	0.5211	59(28.1)	1.1(0.7-1.7)	0.8081
FHIT M1T								
	TT	209 (42.1)	22(51.2)	1.0 (reference)		92(36.4)	1.0 (reference)	
	TC	230 (46.4)	15(34.9)	0.6(0.3-1.3)	0.2120	124(49.0)	1.2(0.8-1.7)	0.3105
	CC	57 (11.5)	6(14.0)	1.1(0.4-2.9)	0.8495	37(14.6)	1.5(0.9-2.4)	0.1472
RASSF1 A63S								
	TT/GT	96 (15.0)	7(14.3)	1.0 (reference)		31(10.2)	1.0 (reference)	
	GG	545 (85.0)	42(85.7)	1.0(0.4-2.3)	0.9855	272(89.8)	1.5(0.9-2.3)	0.0937

^a Adjusted for age and education level

^b CIN: Cervical intraepithelial neoplasia.

^c CI: Confidence interval

Table 9. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of susceptibility genes on invasive cervical cancer according to histological type^a

Gene	Genotype	Controls		Invasive cancer				
		N (%)	N (%)	Adenocarcinoma		Squamous cell carcinoma		
				OR (95% CI) ^c	P-value	N (%)	OR (95% CI)	P-value
MTHFR C677T								
	CC	219 (32.0)	15(30.6)	1.0 (reference)		76(27.5)	1.0 (reference)	
	CT	331 (48.5)	21(42.9)	0.9(0.4-1.7)	0.7012	133(48.2)	1.1(0.7-1.5)	0.7666
	TT	133 (19.5)	13(26.5)	1.3(0.6-2.9)	0.5057	67(24.3)	1.3(0.8-1.9)	0.2603
GSTP1 I105V								
	AA	455 (66.2)	39(73.6)	1.0 (reference)		175(62.5)	1.0 (reference)	
	GA/GG	232 (33.8)	14(26.4)	0.7(0.3-1.5)	0.3367	105(37.5)	1.2(0.9-1.6)	0.2481

^a Adjusted for age and education level

^b CIN: Cervical intraepithelial neoplasia.

^c CI: Confidence interval

Table 10. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of immune-related genes on invasive cervical cancer according to histological type^a

Gene	Genotype	Controls		Invasive cancer				
		N (%)	N (%)	Adenocarcinoma		Squamous cell carcinoma		
				OR (95% CI) ^c	P-value	N (%)	OR (95% CI)	P-value
IRF1 IVS6-7								
	CC	42 (7.9)	2 (4.3)	1.0 (reference)		15 (5.5)	1.0 (reference)	
	TC	195 (36.7)	20 (42.6)	2.1 (0.5-9.6)	0.3213	87 (32.5)	1.3 (0.7-2.6)	0.3964
	TT	295 (55.5)	25 (53.2)	2.0 (0.4-8.8)	0.3682	166 (61.9)	1.8 (0.9-3.5)	0.0738
TNFA -238								
	AA/GA	66 (9.5)	2 (4.1)	1.0 (reference)		25 (9.0)	1.0 (reference)	
	GG	628 (90.5)	47 (95.9)	2.4 (0.6-10.3)	0.2289	253 (91.0)	1.0 (0.6-1.7)	0.9556
TNFA -308								
	GG	306 (87.4)	24 (82.8)	1.0 (reference)		126 (86.3)	1.0 (reference)	
	AA/GA	44 (12.6)	5 (17.2)	1.6 (0.6-4.5)	0.3781	20 (13.7)	1.2 (0.7-2.2)	0.5451

^a Adjusted for age and education level

^b CIN: Cervical intraepithelial neoplasia.

^c CI: Confidence interval

Table 11. Adjusted odds ratio (OR) of tumor suppressor gene(P53, P21) gene polymorphic genotypes on cervical cancer according to age at diagnosis

Gene	Genotype	Age less than 40 years at diagnosis			Age over 40 years at diagnosis			
		Cases	OR ^a (95% CI ^c)	OR ^b (95% CI)	Cases	OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)	
P53 R72P	Invasive	CC	20	1.0 (reference)	1.0 (reference)	23	1.0 (reference)	1.0 (reference)
		GC	46	0.8 (0.4 – 1.4)	0.7 (0.4 – 1.5)	117	1.5 (0.9 – 2.7)	1.7 (0.9 – 3.3)
		GG	46	0.8 (0.4 – 1.5)	0.9 (0.4 – 1.9)	107	1.7 (0.9 – 3.0)	1.7 (0.9 – 3.5)
	Total cases	CC	49	1.0 (reference)	1.0 (reference)	48	1.0 (reference)	1.0 (reference)
		GC	143	1.0 (0.6 – 1.5)	1.0 (0.6 – 1.8)	187	1.1 (0.7 – 1.7)	1.1 (0.6 – 1.8)
		GG	125	0.9 (0.6 – 1.4)	1.0 (0.6 – 1.8)	171	1.2 (0.7 – 1.8)	1.1 (0.6 – 1.8)
P21 S31R	Invasive	AA	24	1.0 (reference)	1.0 (reference)	30	1.0 (reference)	1.0 (reference)
		CA	35	0.6 (0.3 – 1.0)	0.6 (0.3 – 1.2)	94	1.5 (0.9 – 2.6)	1.4 (0.8 – 2.6)
		CC	22	0.7 (0.3 – 1.3)	0.9 (0.4 – 2.0)	46	1.3 (0.7 – 2.3)	1.1 (0.5 – 2.2)
	Total cases	AA	39	1.0 (reference)		42	1.0 (reference)	
		CA	101	1.0 (0.6 – 1.6)	1.2 (0.6 – 2.1)	131	1.5 (0.9 – 2.4)	1.5 (0.9 – 2.6)
		CC	52	1.0 (0.6 – 1.6)	1.3 (0.7 – 2.4)	76	1.5 (0.9 – 2.5)	1.4 (0.8 – 2.6)

^a Adjusted for age and education level

^b Adjusted for age, education level, age at first intercourse, number of children, and

smoking status

^c CI: confidence interval

Table 12. Adjusted odds ratio (OR) of tumor suppressor gene(FHIT, RASSF1A) gene polymorphic genotypes on cervical cancer according to age at diagnosis

Gene	Genotype	Age less than 40 years at diagnosis			Age over 40 years at diagnosis			
		Cases	OR ^a (95% CI ^c)	OR ^b (95% CI)	Cases	OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)	
FHIT M1T	Invasive	TT	39	1.0 (reference)	1.0 (reference)	75	1.0 (reference)	1.0 (reference)
		TC	40	1.0 (0.6-1.6)	1.5 (0.8-2.7)	99	1.1 (0.8-1.7)	1.1 (0.7-1.8)
		CC	16	1.8 (0.9-3.5)	2.7 (1.1-6.8)	27	1.2 (0.7-2.2)	1.0 (0.5-2.1)
	Total cases	TT	102	1.0 (reference)	1.0 (reference)	111	1.0 (reference)	1.0 (reference)
		TC	101	1.0 (0.7-1.4)	1.3 (0.8-2.1)	153	1.2 (0.9-1.7)	1.2 (0.8-1.8)
		CC	38	1.6 (0.9-2.6)	2.9 (1.4-5.8)	46	1.4 (0.9-2.4)	1.2 (0.6-2.1)
RASSF1 A63S	Invasive	TT/GT	11	1.0 (reference)	1.0 (reference)	27	1.0 (reference)	1.0 (reference)
		GG	98	1.5 (0.8-3.0)	2.0 (0.8-4.7)	216	1.2 (0.7-1.9)	1.0 (0.6-1.8)
	Total cases	TT/GT	32	1.0 (reference)	1.0 (reference)	53	1.0 (reference)	1.0 (reference)
		GG	275	1.6 (1.0-2.6)	3.0 (1.5-5.9)	345	1.0 (0.6-1.5)	1.0 (0.6-1.6)

^a Adjusted for age and education level ^b Adjusted for age, education level, age at first intercourse, number of children, and smoking status ^c CI: confidence interval

Table 13. Adjusted odds ratio (OR) of MTHFR C677T polymorphic genotypes on cervical cancer according to age at diagnosis

Gene	Genotype	Age less than 40 years at diagnosis			Age over 40 years at diagnosis			
		Cases	OR ^a (95% CI ^c)	OR ^b (95% CI)	Cases	OR ^a (95% CI)	OR ^b (95% CI)	
MTHFR C677T	Invasive	CC	29	1.0 (reference)	1.0 (reference)	62	1.0 (reference)	1.0 (reference)
		CT	43	1.1 (0.6 – 1.8)	1.1 (0.6 – 2.1)	111	1.1 (0.7 – 1.6)	1.1 (0.7 – 1.7)
		TT	28	1.7 (0.9 – 3.1)	2.1 (1.0 – 4.3)	52	1.1 (0.7 – 1.8)	1.2 (0.7 – 2.2)
	Total cases	CC	80	1.0 (reference)	1.0 (reference)	105	1.0 (reference)	1.0 (reference)
		CT	130	1.3 (0.9 – 1.8)	1.4 (0.9 – 2.2)	177	1.1 (0.8 – 1.5)	1.1 (0.8 – 1.7)
		TT	62	1.5 (1.0 – 2.3)	1.9 (1.2 – 3.2)	72	1.0 (0.7 – 1.5)	1.3 (0.8 – 2.1)

^a Adjusted for age and education level

^b Adjusted for age, education level, age at first intercourse, number of children, and

smoking status

^c CI: confidence interval

3.4 자궁경부암과 유전-환경 상호작용

Table 14와 15는 유전자 염기 다형성과 환경요인간의 전반적인 관련성을 보기 위한 표이다. 각각의 유전자가 wild type이고 자궁경부암의 위험이 낮은 환경요인을 가진 여성과 비교하여서 variant type이면서 위험이 높은 환경요인을 가지고 있는 여성의 비차비(odds ratio)만을 표에 기입하여서 대략적인 관련성을 보았다. 그 결과를 보면 진단연령이 40세 이하인 여성에서 유전자염기 다형성이 variant type이면서 첫 성교연령이 22세 이하인 여성이 wild type이면서 첫 성교연령이 23세 이상인 여성과 비교하여서 비차비가 6배에서 8배의 분포를 보였다. 그러나, multiplicative model에서의 interaction term은 통계적으로 유의하지 않았다 (Table 15). 또한, MTHFR C677T와 출산력, GSTP1과 흡연간에도 복합효과 (joint effect)의 결과를 보였다(Table 16,17). TNFA(-308)의 AA/GA이면서 첫 성교연령이 22세 이하인 여성의 비차비는 6.2(95%CI, 2.0-19.1)로 통계적으로 유의하였고(Figure 3), RASSF1A GG이면서 첫 성교연령이 22세 이하인 여성에서의 비차비는 RASSF1A TT/GT이면서 첫 성교연령이 23세 이상인 여성에 비하여서 8.4(95%CI, 2.7-26.1)의 결과를 보였다(Figure 4).

Table 14. Odds ratio of joint effect for gene and environmental factors on invasive cervical cancer

			Category	Smoking Current	husband's smoking ≥ 20cig/day	parity 2+	education ≤ 6 year	intercourse ≤ 22 age
Main effect				2.5**	1.9**	1.2	2.6**	2.6**
Gene fuction	Gene	Genotype						
Tumor suppressor	P53	GG	1.1	2.9**	2.4**	1.5	3.6**	2.8**
Tumor suppressor	P21	AA	1	3.0**	1.8**	2.2**#	3.0**	3.1*
Tumor suppressor	FHIT	TC/CC	1.2	3.7*	2.3**	1.9	3.5**	3.4**
Tumor suppressor	RASSF1	GG	1.4	2.7**	3.0**	1.1	3.6	3.2**
Metabolism	MTHFR	TT	1.3	3.5**	2.4**	1.5	3.2**	2.9**#
Metabolism	GSTP1	GA/GG	1.1	4.2**#	2.1**	1.3	3.1**	3.8**##
Immune	IRF1	TT/TC	1.4*	3.2*	2.0**	1.8	4.4**	4.3**
Immune	TNFA238	GG	1.1	3.4**	1.9	1.2	2.9**	2.9**
Immune	TNFA308	AA/GA	1.3	3.0*	2.2**	2.9	2.6**	5.5**

^a Adjusted for age and education level

* P<0.05, ** P<0.01

P for interaction<0.05, ## P for interaction<0.01



Table 15. Odds ratio of joint effect for gene and environmental factors on invasive cervical cancer less than 40 years at diagnosis

			Category	smoking Current	husband's smoking ≥20cig/day	parity 2+	education ≤6 year	Intercourse ≤22 age
Main effect				1.7	1.6	2.5**	1.1	4.3*
Gene fuction	Gene	Genotype						
Tumor supressor	P53	GG	1	2.4	2.0*	3.1**	1.8	6.4***#
Tumor supressor	P21	AA	1.6	4.4	2.1	3.6**	3.7	7.8**
Tumor supressor	FHIT	TC/CC	1.1	3.1	1.9	4.3**	2.1	6.0**
Tumor supressor	RASSF1	GG	1.5	2.4	2.2	1.4#	2	8.4**
Metabolism	MTHFR	TT	1.6	4	2.8*	4.4**	2	6.2**
Metabolism	GSTP1	GA/GG	1.1	4.2**	1.7	2.7*	1.7	5.7**
Immune	IRF1	TT/TC	1	2.8	1.2	2.5*	2	5.5**
Immune	TNFA238	GG	0.9	1.9	0.9	1.8	1	2.8**#
Immune	TNFA308	AA/GA	1.3	3.4*	1.7	2.6	1.6	7.7*

^a Adjusted for age and education level

* P<0.05, ** P<0.01

P for interaction<0.05, ## P for interaction<0.01

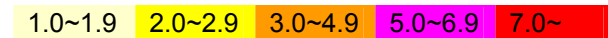


Table 16. Odds ratio of parity and MTHFR gene-environment interaction on invasive cervical cancer less than 40 years at diagnosis^a

Number of children	MTHFR C677T	Controls (n=574)	Cases (n=97)	OR (95% CI ^b)
		Number (%)	Number (%)	
0 ≤ No. ≤ 1	CC/CT	88 (15.3)	13 (13.4)	1.0 (reference)
0 ≤ No. ≤ 1	TT	26 (4.5)	6 (6.2)	1.5 (0.5-4.5)
2+	CC/CT	372 (64.8)	57(58.8)	2.5 (1.2-5.1)
2+	TT	88 (15.3)	21(21.7)	4.4 (1.8-10.4)*

^a Adjusted for age and education level

^b CI: confidence interval

* P for interaction=0.7785

Table 17. Odds ratio of smoking and GSTP1 gene-environment interaction on invasive cervical cancer^a

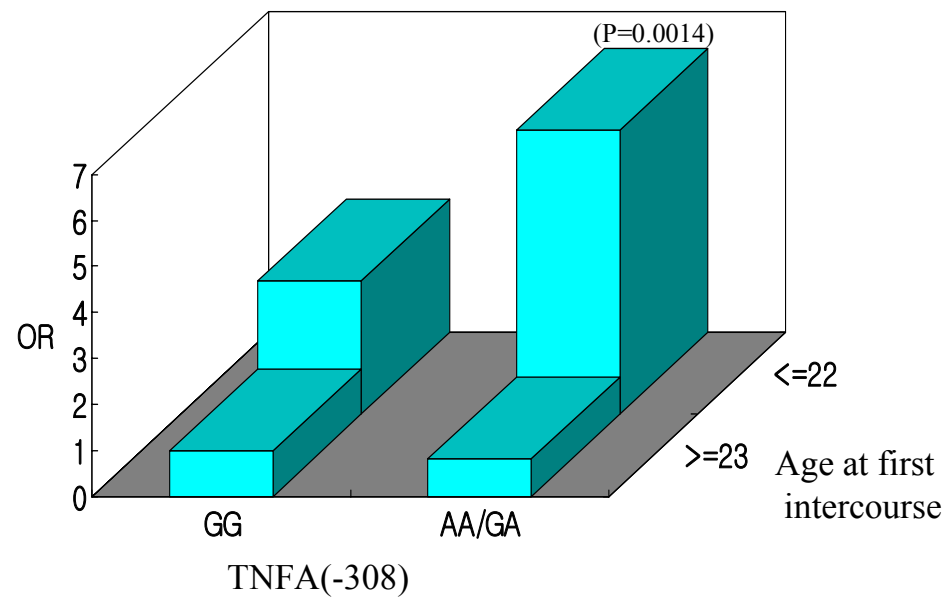
Smoking status	GSTP1	Controls (n=552)	Cases (n=258)	OR (95% CI) ^b
		Number (%)	Number (%)	
Never	GA/GG	180 (32.6)	82 (31.8)	1.0 (reference)
Never	AA	351 (63.6)	150 (58.1)	0.9 (0.6-1.2)
Ever	GA/GG	8 (1.5)	5 (1.9)	1.2 (0.4-4.0)
Ever	AA	13 (2.4)	21 (8.1)	3.7 (1.7-8.1)*

^a Adjusted for age and education level

^b CI: confidence interval

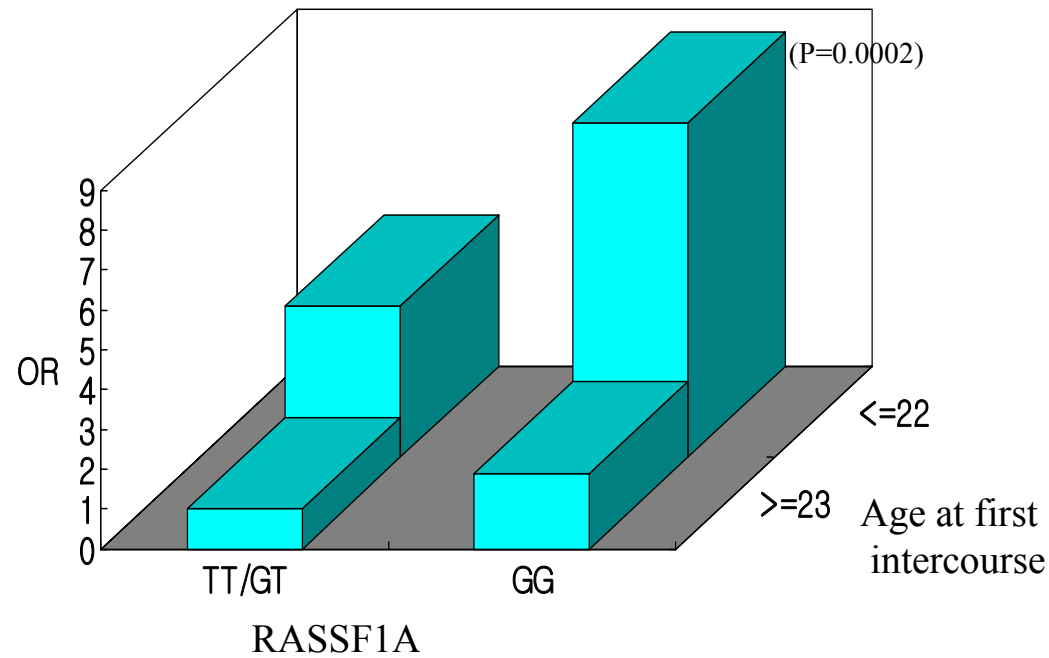
* P for interaction=0.0899

Figure 3. Odds ratio of age at first intercourse and TNFA(-308) gene-environment interaction on squamous cell carcinoma



Adjusted for age, education level

Figure 4. Odds ratio of age at first intercourse and RASSF1A Gene-environment interaction on invasive cervical cancer less than 40 years



Adjusted for age, education level

3.5 유전-유전 상호작용

Table 18와 19는 유전자 염기 다형성간의 유전-유전 복합효과(joint effect)의 전반적인 관련성을 보기위한 표이다. 두 유전자 모두 wild type인 여성과 비교하여서 두 유전자가 모두 variant type인 여성의 비차비만을 표에 표시하여서 대략적인 관련성을 보았다. 그 결과를 보면 MTHFR C677T와 종양억제 유전자들 간에 비차비가 2~3으로 복합효과를 보였고, MTHFR C677T와 면연관련 유전자 간에도 비차비가 2~4로 복합효과가 관찰되었다. 또한, P53과 P21 등 복합효과를 보인 유전자간의 조합을 볼 수 있다. FHIT와 MTHFR 간에는 두 유전자가 모두 variant type인 경우에 진단연령이 40세 이하인 편평상피 세포암에 대한 비차비가 2.4의 결과를 보였고 통계적으로도 유의하였다. 또한, multiplicative model에서의 interaction term도 p-value가 0.0530으로 marginally significant 결과를 보였다(Table 20). P53과 MTHFR간의 간에는 두 유전자가 모두 variant type인 경우에 진단연령이 40세 이하인 편평상피 세포암에 대한 비차비가 3.4의 결과를 보였고 통계적으로도 유의하였다. 그러나, multiplicative model에서의 interaction term은 p-value가 0.1130으로 통계적으로 유의하지는 않았다(Table 21). MTHFR C677T와 TNFA(-308)간의 관련성은 MTHFR이 T allele homozygote이고 TNFA(-308)이 AA/GA인 여성이 두 유전자 모두 wild type인 여성에 비하여 진단연령이 40세 이하인 편평상피세포암의 위험이 5.3(95%CI, 1.1-24.8)의 결과를 보였다(Figure 5). P53과 P21의 경우는 P53이 CC/GC이고 P21이 AA인 경우에 비차비가 2.0의 결과를 보였다(Figure 6). Table 22는 P53, MTHFR, 남편흡연의 3가지를 함께 분석한 결과인데 진단연령이 40세 미만 환자들에서 두 유전자 모두 variant homozygote이고 남편이 20개비 이상의 흡연자인 경우에 비차비는 5.1(95% CI, 1.8-14.3)의 결과를 보였다. Table 23은 MTHFR, RASSF1A, FHIT 등 주로 DNA methylation 관련 유전자들을 분석한 것이다. 3가지 유전자 염기 다형성 모두 wild type homozygote인 여성들과 비교하여서 3가지 유전자 모두 variant type homozygote인 여성들이 40세 이전에 자궁경부암에 걸릴 위험은 4.3배 높았다.

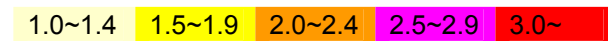
Tables 18. Odds ratio of joint effect between two genes on invasive cervical cancer

Gene function	Gene	Genotype	Immune			Metabolism		Tumor suppressor		
			TNFA308	TNFA238	IRF1	GSTP1	MTHFR	RASSF1	FHIT	P21
			AA/GA	GG	TT	GA/GG	TT	GG	TC/CC	AA
Tumor suppressor	P53	GG	1.9	1.3	1.6*	1.6*	1.5	2.0*	1.3	1.4#
Tumor suppressor	P21	AA	1.9	1.6#	1.5*	1.2	2.3	1.2	1.2	
Tumor suppressor	FHIT	TC/CC	1.7	2.7	2.0*	1.3	1.6	1.3		
Tumor suppressor	RASSF1	GG	2.7	1.2	1.2#	1.4	1.5			
Metabolism	MTHFR	TT	2.9	1.9	1.8*	1.8**##				
Metabolism	GSTP1	GA/GG	1.4	1.5	1.6*					
Immune	IRF1	TT	2	2.1						
Immune	TNFA238	GG	3.1							

^a Adjusted for age and education level

* P<0.05, ** P<0.01

P for interaction<0.05, ## P for interaction<0.01



Tables 19. Odds ratio of joint effect between tow genes on invasive cervical cancer less than 40 years at diagnosis

Gene fuction	Gene	Genotype	Immune			Metabolism		Tumor suppressor		
			TNFA308	TNFA238	IRF1	GSTP1	MTHFR	RASSF1	FHIT	P21
			AA/GA	GG	TT	GA/GG	TT	GG	TC/CC	AA
Tumor supressor	P53	GG	1.2	0.8	1.2	1.4	2.0*	2.4	0.9	2.0*
Tumor supressor	P21	AA	2.0*	2.4	2.6*	1.8	3.1	1.9	2.1*	
Tumor supressor	FHIT	TC/CC	1.4	2.8	2.6*##	1.2	3.4**#	2.1		
Tumor supressor	RASSF1	GG	1.5	1.4	0.1*#	2.9	2.4			
Metabolism	MTHFR	TT	4.1	2.5	2.6*	2.2*				
Metabolism	GSTP1	GA/GG	1.1	1.3	1.2					
Immune	IRF1	TT	1.5	2.2						
Immune	TNFA238	GG	3.5							

^a Adjusted for age and education level

* P<0.05, ** P<0.01

P for interaction<0.05, ## P for interaction<0.01



Table 20. Odds ratio of FHIT and MTHFR gene-gene interaction on squamous cell carcinoma less than 40 years at diagnosis^a

FHIT	MTHFR	Controls (n=477)	Cases (n=82)	OR (95% CI) ^b
		Number (%)	Number (%)	
CC/TC	CC/CT	230 (48.2)	39 (47.6)	1.0 (reference)
CC/TC	TT	42 (8.8)	9 (11.0)	1.2 (0.5-2.7)
TT	CC/CT	167 (35.0)	20 (24.4)	0.6 (0.4-1.2)
TT	TT	38 (8.0)	14 (17.1)	2.4 (1.1-5.0)*

^a Adjusted for age and education level

^b CI: confidence interval

* P for interaction=0.0530

Table 21. Odds ratio of P53 and MTHFR gene-gene interaction on squamous cell carcinoma less than 40 years at diagnosis^a

P53	MTHFR	Controls (n=674)		Cases (n=90)	
		Number (%)	Number (%)	OR ^a (95% CI ^c)	OR ^b (95% CI)
CC/GC	CC/CT	324 (48.1)	40 (44.4)	1.0 (reference)	1.0 (reference)
CC/GC	TT	78 (11.6)	11 (12.2)	1.1 (0.5-2.3)	1.3 (0.5-3.4)
GG	CC/CT	218 (32.3)	25 (27.8)	0.8 (0.5-1.5)	0.9 (0.5-1.9)
GG	TT	54 (8.0)	14 (15.6)	2.2 (1.1-4.5)*	3.4 (1.4-8.2)

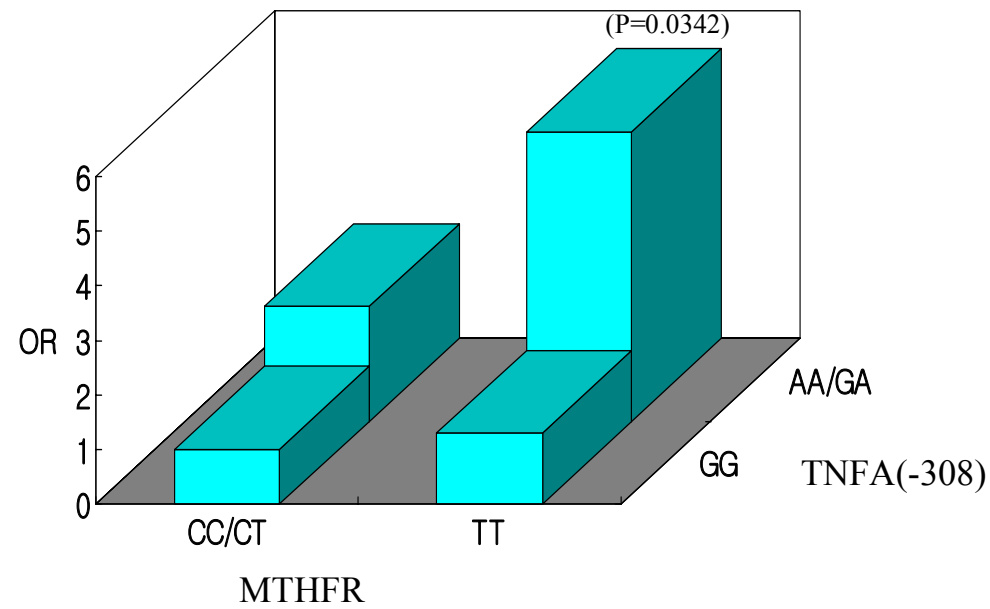
^a Adjusted for age and education level

^b Adjusted for age, education level, age at first intercourse, number of children, and smoking status

^c CI: confidence interval

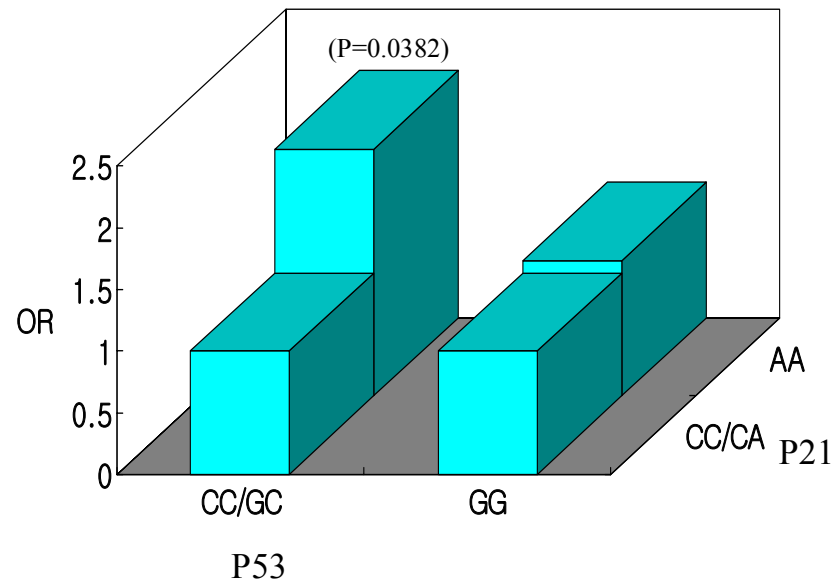
* P for interaction=0.1130

Figure 5. Odds ratio of MTHFR and TNFA(-308) gene-gene interaction on squamous cell carcinoma less than 40 years at diagnosis



^a Adjusted for age, education level

Figure 6. Odds ratio of P53 and P21 gene-gene interaction on invasive cervical cancer less than 40 years at diagnosis



^a Adjusted for age, education level

Table 22. Adjusted Odds Ratios and 95% CIs for interaction between husband's smoking, P53, and MTHFR in invasive cervical cancer less than 40 at diagnosis [no. of cases/no. of controls] ^a

		P53 R72P	CC or GC	CC or GC	GG	GG
		MTHFR C677T	CC or CT	TT	CC or CT	TT
		Main effect	Combined effect			
Husband's smoking(cigarettes/day)	<20	1.0 (reference) [42/339]	1.0 (reference) [21/167]	1.4(0.5-4.0) [6/33]	0.8(0.4-1.8) [11/107]	1.0(0.3-3.3) [4/32]
	≥ 20	1.5 (0.9-2.4) [35/173]	1.1(0.5-2.4) [14/82]	1.0(0.3-3.8) [3/24]	1.2(0.5-3.0) [9/53]	5.1(1.8-14.3) [9/14]

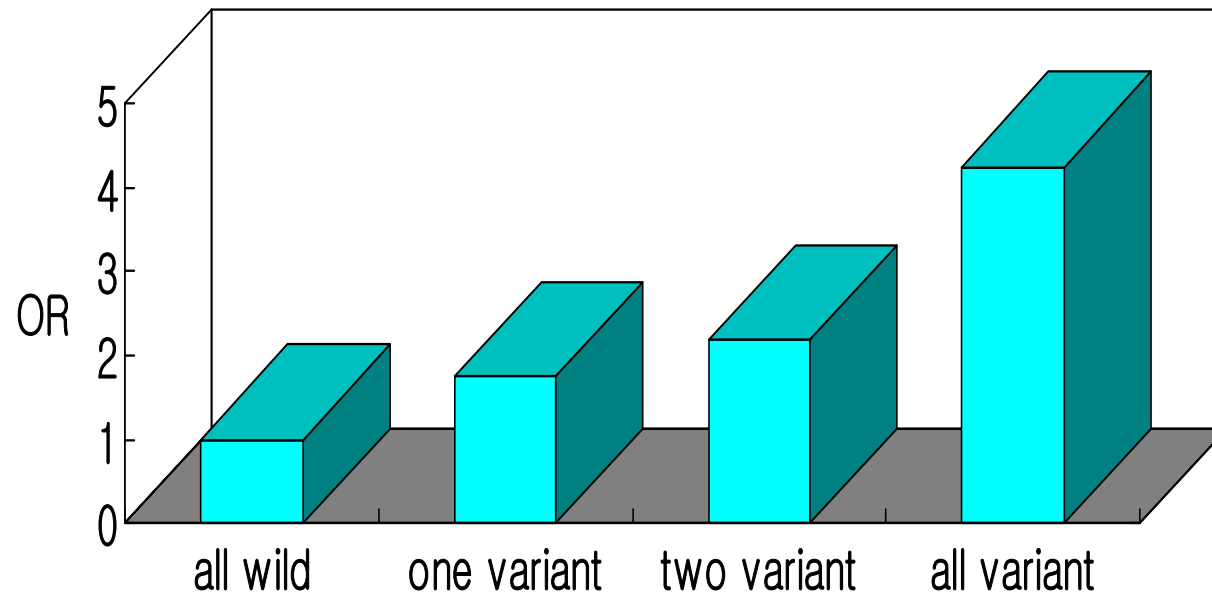
^a Adjusted for age and education level

Table 23. Adjusted Odds ratios and 95% CIs for interaction between RASSF1, FHIT, and MTHFR in cervical cancer less than 40 years at diagnosis ^a

FHIT	RASSF1A	MTHFR	No. of case subjects (n=217)	No. of control subjects (n=384)	OR (95% CI)
All putative low-risk genotypes					
TT	TT or GT	CC or CT	7	19	1.0(referent)
One putative high-risk genotype					
CC or TC	TT or GT	CC or CT	13	25	1.8(0.5–6.4)
TT	GG	CC or CT	57	117	1.7(0.6–4.9)
TT	TT or GT	TT	3	3	3.4(0.4–29.1)
Two putative high-risk genotypes					
CC or TC	GG	CC or CT	88	162	2.0(0.7–5.5)
CC or TC	TT or GT	TT	2	7	2.2(0.3–16.3)
TT	GG	TT	23	25	4.0(1.2–13.4)
All three putative high-risk genotypes					
CC or TC	GG	TT	24	26	4.3(1.3–14.3)

^a Adjusted for age, education level, age at first intercourse, and number of children

Figure 7. Odds ratio(OR) of MTHFR, RASSF1A, FHIT gene-gene interaction on invasive cervical cancer less than 40 years at diagnosis



Adjusted for age, education, age at first intercourse, and number of children

제 4 장 고 찰

자궁경부암의 생활습관요인에 있어서 첫 성교 연령이 낮을수록, 교육수준이 낮을수록, 출산자녀수가 많을수록, 본인 흡연량이 많을수록, 남편의 흡연량이 많을수록 자궁경부암의 위험이 높았다. 이는 대체로 외국의 연구들과 일치하는 내용이었다(Castellsague et al., 2003). 우리나라 연구로는 서울대학병원 환자들을 대상으로 1992년 9월부터 1995년 5월까지 시행한 환자-대조군 연구의 결과가 있다(구혜원 등 1996). 또한, 동일한 자료를 가지고 윤하정 등이 2002년에 한국인 자궁경부암의 복합위험도를 추정하였으나 최근의 여성에는 정확히 맞지 않을 제한점을 가지고 있다(윤하정 등 2002). 따라서 본 연구의 결과는 한국인 여성의 자궁경부암의 환경요인을 추정하는 기초자료로도 활용이 가능하다.

p53은 염색체 17p13에 위치하고, 총 10 개의 exon으로 구성된 유전자로 53-kDa의 단백질을 만든다. 정상적인 과정에서 바이러스 감염이나 DNA 파괴를 받았을 경우, 활성화된 p53은 p21을 유도하여 많은 cyclin과 cyclin dependent kinase와 결합하여 G1에서 S, G2에서 M으로 이행하는 것을 막는다 (El-Deiry et al., 1994 ; Niculescu et al., 1998). HPV-16, -18의 E6, E7 종양 유발 단백질은 p53과 RB 단백질을 비 활성화시키며, 세포 성장 억제 기능을 상실하게 하여 자궁경부암을 일으키게 된다 (zur Hausen, 1989). 자궁경부 발암과정에 있어서 종양 억제 유전자인 p53은 codon 72에서 유전자 염기다형성을 보이게 되는데, exon 4에서 CGC가 CCC로 바뀌면서 아미노산이 Arginine에서 Proline으로 변하는데, Arginine 이 Proline에 비해, HPV에 감염되었을 경우, p53 단백질이 E6 oncoprotein에 의해 유전적 감수성을 더 보이며, 또한, p53(Arg/Arg)이 7배정도 자궁경부암에 감수성이 있는 실험 보고가 있었다 (Storey et al., 1998). 그 이후에 P53 codon 72와 자궁경부암에 대한 많은 연구들이 있어왔으나 상반된 결과를 보였다.

최근에 Koushik 등(2004)이 1998년부터 2002년까지 자궁경부암과 p53

codon 72 polymorphism과의 관련성을 주제로 한 논문 45편을 모아서 메타 분석을 실시하였다. 그 결과를 보면 전암 단계에서는 p53 codon 72 염기 다형성과는 관련이 없었고, 편평상피세포암과는 odds ratio가 1.5(95%CI,) 선암과는 1.7(95%CI,)의 통계적으로 유의한 메타분석 결과를 보였다. 또한, 메타분석의 결과가 전암에서는 관련성이 없고 친윤 세포암에서만 관련이 있었다. 따라서 p53 codon 72 염기 다형성이 암의 개시(initiation)보다는 진행(progression)에서 더 중요한 역할을 할 가능성이 있다고 해석이 가능하다. 또한, 메타분석 논문의 저자들은 연구들마다 결과의 차이가 많았던 것은 하디-와인버그 평형을 만족하지 않은 것을 그 원인으로 이야기하고 있다. 그러나, 본 논문의 자료에서는 하디-와인버그 평형을 만족하였고 40세 이후에 진단된 자궁경부암 환자의 경우 비차비가 1.7의 결과를 보여서 Koushik 등의 메타분석의 결과와 일치하였으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

p21은 총 3개의 exon으로 구성된 유전자로 cyclin dependent kinase inhibitor 역할을 하며, G1 arrest 과정에 직접적으로 관계한다(Hunter, 1993). p21 SNP는 codon 31에서 염기가 C에서 A로 변형될 때 아미노산은 Serine에서 Arginine으로 변형된다(Facher et al., 1997). P21 codon 31 유전자 다형성의 빈도는 코카시안의 경우 arginine 유전형의 빈도를 9~19%로 보고하고 있으며, 아프리카인이나 아시아인에서는 29~55%의 빈도를 보였다(Facher et al., 1997; 노주원 등 2000). P21 유전자 다형성과 악성 종양과의 관계에 있어서는 이미 많은 종양, 즉, 유방암, 전립선암, 폐암, 연부육종 위암, 자궁내막암 등에서 31번 코돈의 arginine 대립 유전자의 빈도가 정상 대조군에 비하여 높음이 알려져 있다(Facher et al., 1997; Hachiya et al., 1999). 반면, 최근에 노주원 등의 연구에서는 자궁경부 선상피암에 대한 발생 위험도가 arginine을 포함한 유전형을 보이는 군에서보다 Serine allele 동형접합체를 가진 군에서 높았다(노주원 등 2000). 그러나 본 연구에서는 serine allele 동형접합체의 경우에 선암과는 관련이 없었고 CIN2에서 비차비가 2.7로 통계적으로 유의하게 높았다. 31번 코돈 유전자 형에 따라 자궁경부이형증의 위험도가 달라지는 생물학적 원리를 밝히는 연구가 추가되어야 할 것이다.

암세포에서 P53 유전자의 소실(LOH: loss of heterozygosity) 이외에도 여러 염색체에서의 유전적 변화를 많이 보고하고 있는데 특히 그 중에서도 가장 많은 변화를 보이는 것이 3번 염색체 단완부위(3p)이다. FHIT 유전자는 이 3번 염색체 단완(3p14.2)에 존재하는 종양 억제 유전자로 추정되는데 이 유전자의 소실은 다른 여러 상피성 종양에도 나타난다. Druck 등(1997)은 Western blot 분석법으로 여러 종양 세포주에서 Fhit 유전자 발현의 이상을 발견하였고, Hendricks 등(1997)도 자궁경부암 세포주의 63%에서 Fhit 유전자 단백질 발현 소실을 보고한 바 있으며 다른 연구에서도 이와 비슷한 결과를 발표하였다(Miller et al., 1998; Greenspan et al., 1997). 최근 우리나라의 연구결과에서도 침윤성 자궁경부암의 경우 전체 27예 중 21예(77.8%)에서 Fhit 단백질 발현 소실이 있었고 이는 HSIL의 Fhit 단백질 소실율(45.4%)에 비해 유의하게 높았다(이봉규 등 2002). Fhit 유전자 소실이 흡연과 관련이 있다는 보고도 있다. Croce et al(1999)의 연구에서 비흡연자에 비하여 흡연자의 Fhit 유전자 소실이 높았다. 본 자료의 결과에서도 흡연과의 약한 상호작용을 보였으나 여성의 흡연율이 낮아서 분석에 한계가 있었다. 또한, 본 자료의 Fhit codon98 염기 다형성 부위는 연구가 많지 않으므로 이 유전자 염기 다형성 부위와 Fhit 유전자 단백질 발현 소실과 관련성에 관한 연구 등 추후 분자생물학적인 연구가 더 필요할 것으로 판단된다.

RASSF1A는 FHIT 유전자와 함께 3번 염색체 단완(3P 21.3)에 존재하는 종양 억제 유전자이다. 여러 암에서 유전자의 소실이 자주 보고되며, 특히, 암세포에서 이 유전자의 promoter 부위의 hypermethylation이 흔하게 보고되고 있다. Yu et al(2003)이 50명의 자궁경부암 환자의 세포를 검사한 연구에서 exon 3번에 위치하는 codon133(alanine-serine) 유전자 다형성을 보고하였다. 최근의 다른 연구에서도 폐암 환자에서 codon21과 codon133에서 유전자 amino-acid change가 있는 유전자 다형성 부위를 보고하였다(Endoh et al., 2003). 이처럼 암 환자의 세포에서 유전자 다형성을 보고한 연구들은 있었지만 이 유전자 다형성과 암과의 관련성을 대규모 환자-대조군 연구를 통해서 확인한 연구는 없었다. 우리 연구에서는 진단 연령이 젊은 군에서 관련성을 보였다. 이 유전자

다형성이 최근에 많이 연구가 되고 있는 이 유전자의 promoter의 hypermethylation과 관련이 있는지, 또는 이 유전자의 발현과 관련이 있는지에 대한 추가적인 분자생물학적인 연구가 필요하다. 또한, 최근에는 RASSF1A 유전자의 비활성과 HPV 감염과의 관련성을 제안한 연구도 있었다(Kuzmin et al., 2003). 본 연구에서도 RASSF1A CODON 133 유전자 다형성과 첫 성교연령과의 관련성을 분석한 결과 약한 복합효과가 있었다.

기존의 자궁경부암과 MTHFR C677T와의 관련성에 대한 연구들은 상반된 결과들을 보여왔다. 2000년, 2001년에 발표된 처음의 두 연구들에서는 자궁경부이형증(cervical dysplasia)과 양의 관련성을 보고한 반면(Goodman et al., 2000; Piyathilake et al., 2001), 그 이후 2003년에 발표된 두 연구에서는 관련성을 보이지 않았다(Lambropoulos et al., 2003; Gerhard et al., 2003). 그러나 이러한 연구들은 표본수가 작은 한계점을 가지고 있었다. 본 연구에서 MTHFR C677T 유전자 염기 다형성과 자궁경부암과는 진단연령이 40세 미만인 군에서 비차비가 2.1의 결과를 보였다. 또한, 본 연구에서는 자궁경부이형증(cervical dysplasia)과 침윤성자궁경부암(invasive cervical cancer)간에 결과의 차이는 없었다.

우리의 연구는 MTHFR C677T가 T 열성 모델의 가능성을 제시한다. 다른 연구에서도 MTHFR의 열 불안정성이 열성 유전 모델을 따른다고 보고하였다(Kang et al., 1991). 또 최근의 다른 연구에서도 MTHFR C677T와 호모시스테인 수준과의 열성 유전의 형태를 보였다(Jee et al., 2002). 강문수 등이 인종간 MTHFR 유전자형을 비교한 연구에 의하면 미국 백인, 일본인, 이탈리아인 등과는 유사하였으나 흑인에 비하여서는 VV형이 많다고 하였다(강문수 등 1999). 본 연구의 VV 유전자형의 빈도도 유사한 분포를 보였다.

Piyathilake et al(2001)은 MTHFR 유전자와 출산자녀수 간에 cervical dysplasia간에 강한 관련성을 보였다. 출산 경험이 없고 MTHFR C677T의 CC 유전형인 사람에 비하여 출산경험이 있고 MTHFR C677T의 TT 유전형인 사람이 23배나 높은 위험을 보고하였다. 그러나, 최근의 다른 연구에서는

출산력과 MTHFR 유전자와의 관련성을 보이지 않았다(Gerhard et al., 2003). 본 연구에서는 약한 combined effect를 보였으나 강한 상호작용은 보이지 않았다. 낮은 엽산 섭취와 자궁경부암과의 관련성에 관한 연구는 많았다. 특히, Goodman et al(2000)은 낮은 엽산 섭취와 MTHFR C677T의 T allele을 가진 사람이 자궁경부암의 위험이 5배 높다고 보고하였다. 그러나 본 자료에서는 엽산 섭취에 대한 정보가 없어서 분석을 하지 못하였다.

GSTP1은 독성물질의 대사와 관련되는 유전자로서 특히 담배의 발암물질의 대사와 관련이 있다(Brinton et al., 1986). GSTP1이 담배의 발암물질의 해독과 관련있다는 기전을 생각할 때에 이 유전자의 염기 다형성과 암과의 관련성이 흡연자에서 더 높을 것이라는 가설이 가능하다. 최근에 폐암과 GSTP1와의 연구에서도 흡연량의 증가에 따른 폐암과의 관련성이 GSTP1 GG 유전자형을 가진 사람들에서 더 높았다고 보고하였다(Miller et al., 2003). 본 연구 자료에서는 GG 유전자형을 가진 사람이 적었다. 따라서 GG/GT 유전자형을 묶어서 분석을 하였다. 흡연과의 약한 상호작용을 보였으나 여성의 흡연율이 낮아서 폐암과 GSTP1과의 관련성처럼 뚜렷하지는 않았다. 남편의 흡연과도 약한 상호작용을 보였는데 이것이 간접흡연의 효과 때문인지는 추후 연구가 필요하겠다.

인터페론 조절인자(interferon regulatory factor-1; IRF-1)은 세포주기 조절에 관계된 항 종양유전자(anti-oncogene)이고, HPV E7은 인터페론 조절인자와 반응하여 히스톤 디아세틸화를 시킨다. 이 반응은 자궁경부암 발생기전에 있어 E7에 의해 IRF-1의 전사 활성이 억제되어 HLA-1, TAP-1, MCP-1의 유전자 표현이 억제될 것이라는 면역 회피 기전을 밝히는데 도움을 주게된다(Park et al., 2001). IRF-1을 바이러스 감염, 인터페론, 레티노이드, 프로락틴, TNF 자극을 받았을 경우에 인터페론 신호 체계에 중요한 역할을 하게 된다(Taniguchi et al., 1997). IRF-1 185 codon에서 CCA가 CCG로 변형된다는 SNP 보고가 있었으나, 본 연구에서는 IRF-1 intron 6에서의 SNP를 이용하였다. 본 연구자료에서 자궁경부암과 약한 관련성을 보였지만 이 SNP 기능에 대한 추가적인 분자생물학적인 연구가 필요하다.

TNFA는 강력한 pro-inflammatory (Th1) cytokine이다. 이 유전자의 -308 위치에 G to A transition은 이 유전자의 발현을 6~9배 까지 증가시키므로서 질병의 감수성과 관련이 있을 것으로 생각된다(Kroeger et al., 1997; Wilson et al., 1997). -238 위치의 G to A transition도 endometrial carcinoma 등 여러 질병과의 관련성이 보고되고 있으나 TNFA 발현과의 직접적인 연관성은 보고된 바 없다. 최근의 Kirkpatrick et al.(2004)은 TNFA 유전자 다형성이 HPV 감염에 영향을 줄 수 있다는 가설을 검증하였는데 그 연구 결과에서는 -308 위치의 GG(low TNFA secretor phenotype) 유전형이 CIN1과의 높은 관련성을 보고하였다. 또한, CIN2/3와는 약한 관련성을 보고하였다. 이 연구에서는 -238 위치의 유전자 다형성은 cervical dysplasia와 관련이 없었다. 그러나 CIN1 19명, CIN2/3 58명, 대조군 46 등 표본수가 작은 제한점이 있었다. 한편, 아프리카 짐바브웨에서 103명의 자궁경부암 환자와 101명의 대조군을 대상으로 TNFA -308 유전자 다형성과 자궁경부암과의 관련성은 없었다(Stanczuk et al., 2003). 이 연구에서 G allele의 빈도는 대조군에서 89%로 본 자료와 비슷하였다. 즉, 현재까지의 결과로는 TNFA -308은 암의 진행(progression)보다는 개시(initiation)와 더 관련이 있다는 결과이다. HPV의 면역에 주로 관련되므로 본 연구에서는 HPV의 대리인자로 생각되는 첫 성교 연령과의 유전-환경 상호작용을 평가하였는데 복합효과를 보였다. 한편, 여러 암 환자 169명과 92명의 대조군에서 TNF α -238의 유전자 다형성을 비교한 연구에서는 -238 A allele이 암에 대한 보호효과가 있다는 연구도 있었다(Jang et al., 2001). 본 자료에서는 -238은 관련성을 보이지 않았다.

선암과 편평상피세포암과의 발암기전이 다소 다를 수 있다. 역학연구에서는 첫 성교 연령, 성 파트너 수등이 선암에 있어서는 덜 중요하다고 알려져 있다(Breiburd et al., 1996). 자궁경부 선암의 경우는 HPV-18과 더 관련이 있다는 보고도 있다(Parker et al., 1997). 그러나 본, 연구에서는 선암과 편평상피세포암간에 MTHFR C677T간에 큰 차이는 없었다. Croce et al.(1999)은 Fhit 단백질 발현 소실이 편평상피세포암에서는 87%, 선암에서는 59%를 보고하였다. 본 연구 자료에서도 Fhit와 RASSF1A 유전자 염기 다양성은

선암보다는 편평상피세포암에서 더 높은 관련성을 보였다.

두가지 유전자 염기 다형성의 복합효과를 분석한 결과에서는 MTHFR C677T와 종양억제유전자간에 관련이 있었고, MTHFR C677T와 면역관련 유전자 간에도 관련성이 있었다. 암세포에서 정상적인 DNA methylation의 파괴는 잘 정립된 사실이다. 건강한 세포에서는 정상적인 DNP methylation을 보이는데 비하여 암세포에서는 global hypomethylation이나 CpG island의 hypermethylation(epigenetic features)을 보인다(Jones et al., 1999; Baylin et al., 2001; Esteller et al., 2002). 그러나, 연구자들 간에 해결되지 않은 숙제로 남아있던 것이 global hypomethylation이나 local hypermethylation에 영향을 주는 susceptibility factor가 있는가 하는 것이었다. 이러한 가설을 검증하기 위해서 Paz et al(2002)은 233명의 암 환자를 대상으로 Methy-group 대사 유전자들(MTHFR, methylene-tetrahydrofolate reductase; MS, methionine synthase; CBS, cystathionine β -synthase)과 global methylation과 local hypermethylation과의 관련성을 검증하였다. 그 결과 MTHFR C677T의 T allele은 정상 조직에서 global genomic hypomethylation과 관련이 있고, MS-2756 G allele은 암 세포의 암 억제 유전자의 CpG island의 hypermethylation과의 관련성을 보였다. 이 연구에 기초한다면 본 연구 자료에서 MTHFR C677T와 다른 유전자와의 자궁경부암에 대한 상호작용은 global hypomethylation에 의한 epigenetic model로서 설명이 가능하다. 이와 관련된 또 다른 연구로는 2003년에 Kawakami et al(2003)의 연구가 있다. 이 연구에서는 colorectal cancer에서 엽산 수준이 CpG island의 hypermethylation과 양의 관련성이 있고 MTHFR C677T와는 음의 관련성이 있음을 보고함으로써 역시 간접적으로 MTHFR C677T가 CpG island의 hypermethylation과도 관련이 있음을 보고하였다. 그 밖에 promoter methylation과 엽산의 섭취와 음주가 관련이 있다는 보고도 있었다. 우리 자료에서는 엽산의 섭취나 음주에 대한 자료가 없는 것이 제한점일 수 있다.

P21 유전자는 P53의 하부물질로서 wild type p53에 의하여 발현되며, p53에 돌연변이가 일어난 경우에는 활성화가 이루어지지 않는다(Harper et al., 1993;

Noda et al., 1994). P21 단백질은 cyclin dependent kinase (cdk), cyclin, proliferating cell nuclear antigen (PCNA)으로 구성된 복합체에 결합하여 cdk의 반응을 활성화 또는 억제하는 작용을 모두 할 수 있는데, 단일 분자로 결합할 경우는 억제하는 역할을 하여 세포가 G1 주기에서 멈추게 된다(Zhang et al., 1994; Dulic et al., 1994). P21 유전자의 발현은 이와 같은 p53-의존성 경로 외에도 p53-비의존성 경로도 존재한다(Michieli et al., 1994). P53과 P21의 세포주기에서의 관련성을 통해서 두 유전자간에 복합효과가 있으리라는 가설이 가능하다. 본 연구 결과에서는 통계적으로 유의한 복합효과는 없었다.

P53 메타분석에서 저자들은 연구들마다 결과의 차이가 많았던 것은 하디-와인버그 평형을 만족하지 않은 것을 그 원인으로 이야기하고 있다(Koushik et al., 2004). 그러나, 본 연구에서의 결과는 하디-와인버그 평형을 모두 만족하였다. 다른 한편, DNA 원과 그 분석방법이 결과에 영향을 줄 수 있다. 특별히, DNA 질이 중요하므로 본 연구에서 fresh whole blood를 DNA 검출을 위해 사용하였다.

MTHFR 등 자궁경부암과 유전자염기다형성과의 몇몇 연구에서 HPV에 대한 자료를 보정하거나 층화하였을 때 그 결과가 달라진 경우가 있었다. 그러나, 그러한 연구들은 표본수가 작은 문제를 가지고 있었다. 본 연구에서는 연구비용이나 대조군에 대한 윤리적인 면 때문에 모든 대상자의 HPV typing을 하지는 못하였다. 그러나, 첫 성교연령과 HPV 감염과의 상관성은 이미 잘 알려진 사실이다. 본 연구결과에서는 첫 성교연령을 모델에 포함하여 HPV에 대한 간접적인 통제가 되었을 것으로 판단한다. 또한, 일부 대상자에 대한 HPV 검사를 실시하였는데 그 결과는 대조군 290명 중에서 51명이 양성(17.6%), 환자군 62명 중에서 59명이 양성(95.2%)의 결과를 보였다. 이 중 HPV 양성인 사람만을 대상으로 분석하였을 때에 결과에 일부 차이가 있었으나 HPV 양성 결과자의 수가 적어서 분석에 한계가 있었다(부록). 또한 다른 모든 환자-대조군 연구에서와 같이 본 연구도 질병과의 관련성이 의심되는 위험요인에 대한 정보를 환자의 과거 기억에 의존하여 얻은 것이기 때문에 연구방법론 자체에 어느 정도 오류의 가능성이 내재되어 있다.

Dichotomous nonmendelian 질병에 있어서의 유전적인 감수성은 사람마다 다르며, 만성질환의 경우에 여러 유전자와 환경요인의 조합에 의해서 이러한 감수성은 정해진다. 이러한 감수성은 정규분포의 형태가 될 수 있다. 이러한 유전적 감수성이 일정 수준(threshold)을 넘으면 질병이 발생한다는 이론이 polygenic threshold 이론이다(Falconer, 1981). 본 연구결과 유전-유전, 유전-환경 복합효과를 보임으로서 Falconer의 이론과 일치하는 결과라고 할 수 있다.

제 5 장 요약 및 결론

자궁경부암은 우리나라 여성에서 위암에 이어 2번째로 발생률이 높은 암이다. 자궁경부암 발생은 인 유두종 바이러스(human papilloma virus, HPV) 감염이 위험 요인으로 알려져 있다. 그러나, HPV에 감염된 사람의 5~10%만이 자궁경부암에 걸리므로 HPV 이외의 다른 요인들(cofactors)이 있을 것으로 생각된다. 이러한 cofactors로는 흡연, 출산자녀수, 이른 첫 성교 연령 등의 생활습관요인과 유전요인을 들 수 있다. 이 연구의 목적은 한국 여성 자궁경부암과 관련있는 유전자 염기 다형성(SNP)을 찾고, 각 유전자들과 기존에 알려진 자궁경부암의 생활습관 요인과의 유전-환경상호작용, 기능적으로 관련이 있는 유전자간의 유전-유전 상호작용을 분석하는 것이다.

환자군은 2000 년 10 월부터 2001 년 12 월까지 강남 성모병원을 방문한 외래환자와 입원환자 중에서 Pap smear, punch biopsy, pathologic findings 등을 통해서 자궁경부암으로 환진된 749명이고, 대조군은 같은 기간에 가톨릭의과대학 건강검진에 참여한 대상자 중에서 Pap smear 결과 정상인 사람들 717명으로 총 연구대상자는 1466명이다. 모든 연구 대상자에게는 임상 연구 참가 동의서를 사전에 받았으며, 생활습관요인을 위한 문진표 작성을 하였다. 또한, 혈액에서 추출한 DNA로 연쇄 중합 반응 (PCR)을 이용하여 p53 codon72, p21 codon31, FHIT codon98, RASSF1A codon 133, MTHFR C677T, GSTP1, IRF-1 intron 6, TNFA(-308, -238) 유전자의 다형성을 분석하였다. 통계분석방법은 Multiple Logistic Regression (MLR)을 사용하였으며, 연구대상자의 안정성을 평가하기 위하여 하디-와인버그 평형을 평가하였다. 모든 유전자 염기 다형성에서 하디-와인버그 평형을 만족하였다. 주요 연구결과는 다음과 같다.

1. 연구대상자의 평균 연령은 대조군이 46.1세, 자궁경부암(invasive cancer) 환자군이 50.3세로 환자군이 조금 높았다. 생활습관요인 분석에서는 첫 성교연령이 22세 이하인 여성이 26세 이상인 여성에 비하여 자궁경부암에 걸릴 위험이 4.6배 높았다. 교육수준이 6년 이하인 여성이 교육수준이 13년 이상인

여성에 비하여 자궁경부암의 위험이 5.6배 높았다. 출산자녀수의 경우에는 자녀수가 4명 이상인 여성이 자녀수가 1명 이하인 여성에 비하여 자궁경부암의 위험이 2.4배 높았다. 또한 본인의 흡연이 하루에 10개피 이상인 여성이 비흡연자에 비하여 자궁경부암의 위험이 4.6배 높은 결과를 보였다.

2. 유전요인분석에서 p53 codon72는 40세 이후에 진단된 자궁경부암 환자의 경우 비차비가 1.7의 결과를 보여서 최근의 메타분석 결과와 일치하였으나 통계적으로 유의하지는 않았다. p21 serine allele 동형접합체의 경우에 선암과는 관련이 없었고, CIN2에서 비차비가 2.7로 통계적으로 유의하게 높았다. FHIT codon98의 경우에는 진단연령이 40세 이하인 여성에서 비차비가 2.7, RASSF1A codon 133의 경우에는 3.0, MTHFR C677T의 경우에는 1.9로 통계적으로도 유의한 결과를 보였다.

3. 유전-환경 상호작용 분석에서는 진단연령이 40세 이하인 여성에서 유전자염기 다형성이 variant type이면서 첫 성교연령이 22세 이하인 여성이 wild type이면서 첫 성교연령이 23세 이상인 여성과 비교하여서 비차비가 6~8배의 분포를 보였다. 또한, MTHFR C677T과 출산력, GSTP1과 흡연간에도 복합효과(joint effect)의 결과를 보였다.

4. 유전-유전 상호작용 분석에서는 FHIT와 MTHFR 간에는 두 유전자가 모두 variant type인 경우에 진단연령이 40세 이하인 편평상피 세포암에 대한 비차비가 2.4의 결과를 보였고 통계적으로도 유의하였다. 또한, multiplicative model에서의 interaction term도 p-value가 0.0530으로 marginally significant 결과를 보였다. P53과 MTHFR 간에는 두 유전자가 모두 variant type인 경우에 진단연령이 40세 이하인 편평상피 세포암에 대한 비차비가 3.4의 결과를 보였고 통계적으로도 유의하였다. 그러나, multiplicative model에서의 interaction term은 p-value가 0.1130으로 통계적으로 유의하지는 않았다. P53, MTHFR, 남편흡연의 3가지를 함께 분석한 결과에서는 진단연령이 40세 미만인 환자들에서

두 유전자 모두 variant homozygote이고 남편이 20개비 이상의 흡연자인 경우에 비차비는 5.1(95% CI, 1.8-14.3)의 결과를 보였다. MTHFR, RASSF1A, FHIT 등 주로 DNA methylation 관련 유전자들을 분석한 결과에서는 3가지 유전자 염기 다형성 모두 wild type homozygote인 여성들과 비교하여서 3가지 유전자 모두 variant type homozygote인 여성들이 40세 이전에 자궁경부암에 걸릴 위험은 4.3배 높았다.

MTHFR C677T, FHIT, RASSF1A 등은 자궁경부암과 관련이 있었다. 이러한 관련성은 진단연령이 젊은 경우에 더욱 두드러졌다. 또한, 유전-유전 복합효과에 대한 결과에서는 MTHFR C677T와 종양억제 유전자, MTHFR C677T와 면역관련 유전자 간에 복합효과가 있었다. 본 연구결과 유전-유전, 유전-환경 복합효과를 보임으로서 Falconer의 polygenic threshold 이론과 일치하는 결과라고 할 수 있다. 앞으로 이 유전자 염기다형성에 대한 지속적인 역학적인 연구와 생물학적인 기전 연구가 필요하다.

참고 문헌

- 강문수, 양동호, 최종순, 하권수, 홍세용. 한국인에서 5, 10-Methylenetetrahydrofolate Reductase 유전자 다형성에 관한 연구. 대한내과학회지 1999;56(1): 41-46.
- 구혜원, 유근영, 김동현 등. 한국인 여성에서 자궁경부암의 위험요인에 관한 환자-대조군 연구. 예방의학회지 1996;29(2):159-172
- 노주원, 김경선, 김재원 등. 한국 여성에서 P21 코돈 31 다형성과 자궁경부암 감수성 및 예후와의 연관성. 대한 암학회지 2000;32(6):1050-1058
- 박종섭. 인유두종 바이러스 감염. 대한의사협회지 2002;45(4): 430-442
- 보건복지부 한국중양암등록 사업본부. 한국중양암등록사업 연례보고서 (1999.1-1999.12). 보건복지부. 2001
- 윤하정, 신애선, 박수경 등. 한국인 자궁경부암의 복합위험도 추정. 예방의학회지 2002;35(3):263-268
- 이봉규, 이종섭, 이동혁, 김미진, 이영기, 박윤기, 이두진, 이승호. 자궁경부 상피내 종양과 침윤성 자궁경부암에서의 FHIT 단백질 발현 소실. 대한산부인과학회지 2002; 45(2): 226-232
- Adami H, Nunter D, Trichopoulos D. Cancer Epidemiology. New York; Oxford University Press, 2002: 344-345
- Barton SE, Maddox PH, Jenkins D, Edwards R, Cuzick J, Singer A. Effect of cigarette smoking on cervical epithelial immunity: a mechanism for neoplastic change? Lancet. 1988 Sep 17;2(8612):652-4.
- Baylin SB, Esteller M, Rountree MR, Bachman KE, Schuebel K, Herman JG. Aberrant patterns of DNA methylation, chromatin formation and gene expression in cancer. Hum Mol Genet. 2001 Apr;10(7):687-92.
- Breiburd F, Ramoz N, Salmon J, Orth G. HLA control in the progression of human papillomavirus infection. Semin Cancer Biol 1996;7:359-71.

- Brinton LA, Schairer C, Haenszel W, Stolley P, Lehman HF, Levine R, Savitz DA. Cigarette smoking and invasive cervical cancer. *JAMA*. 1986 Jun 20;255(23):3265-9.
- Burger MP, Hollema H, Gouw AS, Pieters WJ, Quint WG. Cigarette smoking and human papillomavirus in patients with reported cervical cytological abnormality. *BMJ*. 1993 Mar 20;306(6880):749-52.
- Casarett LJ, Klaasen CD, Amdur MO, et al. *Casarett and Doull's Toxicology: the Basic Science of Poisons*. 5th ed. New York: McGrawHill Health Professions Division: 1996.
- Castellsague X, Munoz N. Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis--role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2003;(31):20-8.
- Castellsague X, Munoz N. Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis--role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2003;(31):20-8.
- Castilla LH, Couch FJ, Erdos MR, Hoskins KF, Calzone K, Garber JE, Boyd J, Lubin MB, Deshano ML, Brody LC, et al. Mutations in the BRCA1 gene in families with early-onset breast and ovarian cancer. *Nat Genet*. 1994 Dec;8(4):387-91.
- Castle PE, Wacholder S, Lorincz AT, Scott DR, Sherman ME, Glass AG, Rush BB, Schussler JE, Schiffman M. A prospective study of high-grade cervical neoplasia risk among human papillomavirus-infected women. *J Natl Cancer Inst*. 2002 Sep 18;94(18):1406-14.
- Croce CM, Sozzi G, Huebner K. Role of FHIT in human cancer. *J Clin Oncol*. 1999 May;17(5):1618-24.
- Croce CM, Sozzi G, Huebner K. Role of FHIT in human cancer. *J Clin Oncol*. 1999 May;17(5):1618-24.
- Druck T, Hadaczek P, Fu T, Ohta M, Siprashvili Z, Baffa R, Negrino M et al.: Structure and expression of the human FHIT gene in normal and tumor cells. *Cancer Res* 57: 504-512, 1997.
- Dulic V, Kaufmann WK, Wilson SJ, Tlsty TD, Lees E, Harper JW, Elledge SJ, Reed SI. p53-dependent inhibition of cyclin-dependent kinase activities in human

- fibroblasts during radiation-induced G1 arrest. *Cell*. 1994 Mar 25;76(6):1013-23.
- Easton DF. Cancer risks in A-T heterozygotes. *Int J Radiat Biol*. 1994 Dec;66(6 Suppl):S177-82.
- El-Deiry WS, Harper JW, O'Conner PM. WAF-1/CIP1 is induced in p53 mediated G1 arrest and apoptosis. *Cancer Res* 1994 ; 54 : 1169-1174.
- Endoh H, Yatabe Y, Shimizu S, Tajima K, Kuwano H, Takahashi T, Mitsudomi T. RASSF1A gene inactivation in non-small cell lung cancer and its clinical implication. *Int J Cancer*. 2003 Aug 10;106(1):45-51.
- Esteller M, Herman JG. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours. *J Pathol*. 2002 Jan;196(1):1-7.
- Facher EA, Becich MJ, Deka A, Law JC. Association between human cancer and two polymorphisms occurring together in the p21Waf1/Cip1 cyclin-dependent kinase inhibitor gene. *Cancer*. 1997 Jun 15;79(12):2424-9.
- Falconer DS. *Introduction to quantitative Genetics*, 2nd edn. Longman, London. 1981.
- Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990 Jun 1;61(5):759-67.
- Fodinger M, Wagner OF, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Recent insights into the molecular genetics of the homocysteine metabolism. *Kidney Int Suppl*. 2001 Feb;78:S238-42.
- Gerhard DS, Nguyen LT, Zhang ZY, Borecki IB, Coleman BI, Rader JS. A relationship between methylenetetrahydrofolate reductase variants and the development of invasive cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2003;90:560-5.
- Goddard KA, Hopkins PJ, Hall JM, Witte JS. Linkage disequilibrium and allele-frequency distributions for 114 single-nucleotide polymorphisms in five populations. *Am J Hum Genet*. 2000 Jan;66(1):216-34.
- Goodman MT, McDuffie K, Hernandez B, Wilkens LR, Bertram CC, Killeen J, et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism C677T and dietary folate with the risk of cervical dysplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:1275-80.

- Greenspan DL, Connolly DC, Wu R, Lei RY, Bogelstein JT, Kim YT, Mok JE et al.:
Loss of FHIT expression in cervical carcinoma cell lines and primary tumors.
Cancer Res. 57: 4682-4698, 1997.
- Hachiya T, Kuriaki Y, Ueoka Y, Nishida J, Kato K, Wake N. WAF1 genotype and
endometrial cancer susceptibility. Gynecol Oncol. 1999 Feb;72(2):187-92.
- Harada H, Fujita T, Miyamoto M, Kimura Y, Maruyama M, Furia A, Miyata T,
Taniguchi T. Structurally similar but functionally distinct factors, IRF-1 and IRF-
2, bind to the same regulatory elements of IFN and IFN-inducible genes. Cell
1989 ; 58 : 729-739.
- Harada H, Kitagawa M, Tanaka N, Yamamoto H, Harada K, Ishihara M, Taniguchi T.
Anti-oncogenic and oncogenic potentials of interferon regulatory factors-1 and
-2. Science 1993 ; 259 : 971-974.
- Harper JW, Adami GR, Wei N, Keyomarsi K, Elledge SJ. The p21 Cdk-interacting
protein Cip1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinases. Cell. 1993
Nov 19;75(4):805-16.
- Harper JW, Adami GR, Wei N, Keyomarsi K, Elledge SJ. The p21 CDK-interacting
protein CIP1 is a potent inhibitor of G1 cyclin-dependent kinase. Cell 1993 ;
75 : 805-816.
- Hendricks DT, Taylor R, Reed M, Birrer MJ: FHIT gene expression in human ovarian,
endometrial, and cervical cancer cell lines. Cancer Res 57: 2112-2115, 1997.
- Hildesheim A, Wang SS. Host and viral genetics and risk of cervical cancer. Virus
Res. 2002 Nov;89(2):229-40.
- Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of
cervicovaginal papillomavirus infection in young women. N Engl J Med. 1998
Feb 12;338(7):423-8.
- Jakubowski H, Zhang L, Bardeguet A, Aviv A. Homocysteine thiolactone and protein
homocysteinylation in human endothelial cells: implications for atherosclerosis.
Circ Res. 2000 Jul 7;87(1):45-51.
- Jang WH, Yang YI, Yea SS, Lee YJ, Chun JH, Kim HI, Kim MS, Paik KH. The -238
tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism is associated with
decreased susceptibility to cancers. Cancer Lett. 2001 May 10;166(1):41-6.

- Jee SH, Song KS, Shim WH, Kim HK, Suh I, Park JY, et al. Major gene evidence after MTHFR-segregation analysis of serum homocysteine in families of patients undergoing coronary arteriography. *Hum Genet* 2002;111:128–35.
- Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet.* 1999 Feb;21(2):163-7.
- Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet.* 1999 Feb;21(2):163-7.
- Kang SS, Wong PW, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet* 1991;48:536–45.
- Kawakami K, Ruskiewicz A, Bennett G, Moore J, Watanabe G, Iacopetta B. The folate pool in colorectal cancers is associated with DNA hypermethylation and with a polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase. *Clin Cancer Res.* 2003 Dec 1;9(16 Pt 1):5860-5.
- Kirkpatrick A, Bidwell J, van den Brule AJ, Meijer CJ, Pawade J, Glew S. TNFalpha polymorphism frequencies in HPV-associated cervical dysplasia. *Gynecol Oncol.* 2004 Feb;92(2):675-9.
- Kroeger KM, Carville KS, Abraham LJ. The -308 tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism effects transcription. *Mol Immunol.* 1997 Apr;34(5):391-9.
- Kuzmin I, Liu L, Dammann R, Geil L, Stanbridge EJ, Wilczynski SP, Lerman MI, Pfeifer GP. Inactivation of RAS association domain family 1A gene in cervical carcinomas and the role of human papillomavirus infection. *Cancer Res.* 2003 Apr 15;63(8):1888-93.
- Lambropoulos AF, Agorastos T, Foka ZJ, Chrisafi S, Constantinidis TC, Bontis J, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism C677T is not associated to the risk of cervical dysplasia. *Cancer Lett* 2003;191:187–91.
- Liang JT, Huang KC, Cheng AL, Jeng YM, Wu MS, Wang SM. Clinicopathological and molecular biological features of colorectal cancer in patients less than 40 years of age. *Br J Surg.* 2003 Feb;90(2):205-14.
- Magnusson PK, Lichtenstein P, Gyllenstein UB. Heritability of cervical tumours. *Int J Cancer.* 2000 Dec 1;88(5):698-701.

- Malkin D. Germline p53 mutations and heritable cancer. *Annu Rev Genet.* 1994;28:443-65.
- Matsuo K, Suzuki R, Hamajima N, Ogura M, Kagami Y, Taji H, Kondoh E, Maeda S, Asakura S, Kaba S, Nakamura S, Seto M, Morishima Y, Tajima K. Association between polymorphisms of folate- and methionine-metabolizing enzymes and susceptibility to malignant lymphoma. *Blood.* 2001 May 15;97(10):3205-9.
- Matthews CP, Shera KA, McDougall JK. Genomic changes and HPV type in cervical carcinoma. *Exp Biol Med* 2000 ; 223 : 316-321.
- Meyer MR, Tschanz JT, Norton MC, Welsh-Bohmer KA, Steffens DC, Wyse BW, Breitner JC. APOE genotype predicts when--not whether--one is predisposed to develop Alzheimer disease. *Nat Genet.* 1998 Aug;19(4):321-2.
- Michieli P, Chedid M, Lin D, Pierce JH, Mercer WE, Givol D. Induction of WAF1/CIP1 by a p53-independent pathway. *Cancer Res.* 1994 Jul 1;54(13):3391-5.
- Miller DP, Neuberg D, de Vivo I, Wain JC, Lynch TJ, Su L, Christiani DC. Smoking and the risk of lung cancer: susceptibility with GSTP1 polymorphisms. *Epidemiology.* 2003 Sep;14(5):545-51.
- Miller DP, Neuberg D, de Vivo I, Wain JC, Lynch TJ, Su L, Christiani DC. Smoking and the risk of lung cancer: susceptibility with GSTP1 polymorphisms. *Epidemiology.* 2003 Sep;14(5):545-51.
- Minoguchi T, Kanamori Y, Matsushima M. No evidence of correlation between polymorphism at codon 72 of p53 and risk of cervical cancer in Japanese patients with human papilloma virus 16/18 infection. *Cancer Res* 1998 ; 58 : 4585-86.
- Muller CY, O'Boyle JD, Fong KM, Wistuba II, Biesterveld E, Ahmadam M, Miller DS: Abnormalities of fragile histidine triad genomic and complementary DNAs in cervical cancer : association with human papillomavirus type. *J Natl. Cancer Inst* 90: 433-439, 1998.
- Munoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith JS, Shah KV, Meijer CJ, Bosch FX; International Agency for Research on Cancer. Multicentric Cervical Cancer Study Group. Role of parity and human papillomavirus in

- cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet*. 2002 Mar 30;359(9312):1093-101.
- Niculescu AB III, Chen X, Smeets M, Hengst L, Prives C, Reed SI Effect of p21^{WAF1/CIP1} at both the G1/S and the G2/M cell cycle transitions: pRB is a critical determinant in blocking DNA replication and in preventing endometrium. *Mol Cell Biol* 1998 ; 18 : 629-643.
- Noda A, Ning Y, Venable SF, Pereira-Smith OM, Smith JR. Cloning of senescent cell-derived inhibitors of DNA synthesis using an expression screen. *Exp Cell Res*. 1994 Mar;211(1):90-8.
- Park JS, Kim EJ, Kwon HJ, Hwang ES, Namkoong SE, Um SJ. Inactivation of interferon regulatory factor-1 tumor suppressor protein by HPV E7 protein; Implication for the E7-mediated immune evasion mechanism in cervical carcinogenesis *J Biol Chem* 2000 ; 275 : 6764-6769.
- Park JS, Kim EJ, Kwon HJ, Hwang ES, Namkoong SE, Um SJ. Inactivation of interferon regulatory factor-1 tumor suppressor protein by HPV E7 protein; Implication for the E7-mediated immune evasion mechanism in cervical carcinogenesis *J Biol Chem* 2000 ; 275 : 6764-6769.
- Parker MF, Arroyo GF, Geradts J , Sabichi AL, Park RC, Taylor RR, et al. Molecular characterization of adenocarcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1997;64:242-51.
- Parkin DM, Whelan SL, Ferlay J, Raymond L, Young J. ed. *Cancer Incidence in Five Continents Volume VIII*. Lyon. IARC Scientific Publications. 2002.
- Paz MF, Avila S, Fraga MF, Pollan M, Capella G, Peinado MA, Sanchez-Cespedes M, Herman JG, Esteller M. Germ-line variants in methyl-group metabolism genes and susceptibility to DNA methylation in normal tissues and human primary tumors. *Cancer Res*. 2002 Aug 1;62(15):4519-24.
- Paz MF, Avila S, Fraga MF, Pollan M, Capella G, Peinado MA, Sanchez-Cespedes M, Herman JG, Esteller M. Germ-line variants in methyl-group metabolism genes and susceptibility to DNA methylation in normal tissues and human primary tumors. *Cancer Res*. 2002 Aug 1;62(15):4519-24.

- Piyathilake CJ, Macaluso M, Johanning GL, Whiteside M, Heimbürger DC, Giuliano A. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism increases the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Anticancer Res* 2000;20:1751-7.
- Poppe WA, Ide PS, Drijkoningen MP, Lauweryns JM, Van Assche FA. Tobacco smoking impairs the local immunosurveillance in the uterine cervix. An immunohistochemical study. *Gynecol Obstet Invest.* 1995;39(1):34-8.
- Prokopczyk B, Cox JE, Hoffmann D, Waggoner SE. Identification of tobacco-specific carcinogen in the cervical mucus of smokers and nonsmokers. *J Natl Cancer Inst.* 1997 Jun 18;89(12):868-73.
- Roh JW, Kim MH, Kim JW, Park NH, Song YS, Kang SB, Lee HY. Polymorphism in codon 31 of p21 and cervical cancer susceptibility in Korean women. *Cancer Letters* 2001 ; 165 : 59-62
- Schiffman MH, Brinton LA, Devesa SS, et al. Cervical cancer. In Schottenfeld D, Joseph FF Jr, *Cancer epidemiology and prevention.* New York; Oxford University Press, 1996: 1090-1116
- Schiffman MH, Brinton LA. The epidemiology of cervical carcinogenesis. *Cancer.* 1995 Nov 15;76(10 Suppl):1888-901.
- Sethi S, Muller M, Schneider A, Blettner M, Smith E, Turek L, Wahrendorf J, Gissmann L, Chang-Claude J. Serologic response to the E4, E6, and E7 proteins of human papillomavirus type 16 in pregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Feb;178(2):360-4.
- Stanczuk GA, Sibanda EN, Tswana SA, Bergstrom S. Polymorphism at the -308-promoter position of the tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) gene and cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2003 Mar-Apr;13(2):148-53.
- Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F, Breuer J, Irene M, Matlashewski G, Banks L. Role of a 53 polymorphism in the development of human papilloma virus-associated cancer. *Nature* 1998 ; 393 : 229-234.
- Taniguchi T, Lamphier MS, Tanaka N. IRF-1: the transcription factor linking the interferon response and oncogenesis. *Biochem Biophys Acta* 1997 ; 1333 : M9-M17.

- Thomas JT, Laimins LA. Human papilloma virus E6 and E7: proteins which deregulate the cell cycle. *BioEssays* 1995 ; 17 : 509-518.
- Versteeg R. Aberrant methylation in cancer. *Am J Hum Genet.* 1997 Apr;60(4):751-4.
- Wang SS, Hildesheim A. Chapter 5: Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression. *J Natl Cancer Inst Monogr.* 2003;(31):35-40.
- Werness BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papilloma virus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990 ; 248 : 76-79.
- Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Apr 1;94(7):3195-9.
- Winkelstein W Jr. Smoking and cervical cancer--current status: a review. *Am J Epidemiol.* 1990 Jun;131(6):945-57
- Yu MY, Tong JH, Chan PK, Lee TL, Chan MW, Chan AW, Lo KW, To KF. Hypermethylation of the tumor suppressor gene RASSF1A and frequent concomitant loss of heterozygosity at 3p21 in cervical cancers. *Int J Cancer.* 2003 Jun 10;105(2):204-9.
- Yu MY, Tong JH, Chan PK, Lee TL, Chan MW, Chan AW, Lo KW, To KF. Hypermethylation of the tumor suppressor gene RASSF1A and frequent concomitant loss of heterozygosity at 3p21 in cervical cancers. *Int J Cancer.* 2003 Jun 10;105(2):204-9.
- Zhang H, Hannon GJ, Beach D. p21-containing cyclin kinases exist in both active and inactive states. *Genes Dev.* 1994 Aug 1;8(15):1750-8.
- zur Hausen. Human Papilloma viruses in anogenital cancer as a model to understanding the role of viruses in human cancers. *Cancer Res* 1989 ; 49 : 4677-4681

ABSTRACT

Gene-gene and gene-environmental Interactions of Polymorphisms in Cervical Cancer of Korean Women

Sull, Jae Woong

Dept. of Public Health

The Graduate School

Yonsei University

The risk factors for cervix cancer are early sexual exposure, multiple sexual partners, sexual contact with high risk males, and human papillomavirus (HPV). Even people exposed to the same environment exhibit varied susceptibility to a specific disease due to physiologic, environmental, and especially genetic characteristics; the latter known as one's genetic susceptibility to a disease. The aim of this study was to examine the effect of p53, p21, FHIT, RASSF1A, MTHFR, GSTP1, IRF-1, TNFA on cervical carcinogenesis, and to identify gene-gene and gene-environmental factors affecting cervix carcinogenesis in Korean women.

The study subjects were patients who were pathologically diagnosed with cervical neoplasia (n = 749) compared to normal healthy women as normal controls (n = 717). The single nucleotide polymorphisms (SNPs) of p53 codon 72, p21 codon 31, and interferon regulatory factor-1 (IRF-1) intron 6, FHIT codon98, RASSF1A codon133, MTHFR C677T, GSTP1, TNFA(-308, -238) were evaluated from extracted DNA of peripheral blood with an automatic DNA sequencer. The differences of each SNP, gene-gene and gene-environmental interactions between normal controls and patients were evaluated in the adjusted environmental background. The Hardy-Weinberg equilibrium calculation was performed for both controls and test cases, which all was consistent with the Hardy-Weinberg equilibrium.

In the environmental aspect, the rate of cervix cancer increased in the women with a lower level of education, a younger age at first sexual intercourse and more childbearing. P53 codon 72 had a 1.7 (95% CI, 0.9-3.0) times high risk of a late invasive cervical cancer when they were more than 40 years old at the time of diagnosis. P21 serine allele had a 2.7 (95% CI, 1.3-5.6) times higher risk of CIN2. In an early cervical cancer when they were less than 40 years at the time of diagnosis, MTHFR C677T had a 1.9 (95% CI, 1.2-3.2), FHIT codon98 had a 2.9 (95% CI, 1.4-5.8), and RASSF1A had a 3.0 (95% CI, 1.5-5.9) times higher risk.

Women with two or more children and MTHFR TT had a 3.9 times (P=0.0078) higher risk of cervical cancer, compared to women with one or no children and MTHFR CC. The risk increased with GSTP1 AA among ever smokers compared with GSTP1 G allele positive among nonsmokers. The Women who had p53(Arg/Arg), MTHFR(TT), and a heavy smoker's husband showed a 5.1-fold increased risk of cervix cancer compared to the women who had p53(~Pro), MTHFR(~CC), and non-smoker's husband. The Women who had MTHFR(TT), FHIT(CC), and RASSF1A(GG) had a 4.3-fold increased risk of cervix cancer compared to the women who had MTHFR(~CC), FHIT(TT), and RASSF1A(~TT).

In conclusion, we found that the level of education, the age at first intercourse, and the number of children were independent risk factors in cervix carcinogenesis. Polymorphisms of MTHFR, FHIT, RASSF1A are associated with a higher risk of developing cervical cancer, and in particular for an early onset of cervical carcinogenesis. The specific combinations of p53, MTHFR, FHIT and RASSF1A gene-gene and gene-environmental interactions were significantly noted in the cervix carcinogenesis of Korean women.

Key words: cervical cancer, gene-gene and gene-environmental interactions, IRF-1, p21, p53, MTHFR, FHIT, RASSF1A, polymorphism.

부 록

Table 1. Odds ratio of joint effect for gene and environmental factors on total cervical cancer	75
Table 2. Odds ratio of joint effect for gene and environmental factors on total cervical cancer less than 40 years at diagnosis	76
Table 3. Odds ratio of joint effect between two genes on total cervical cancer.....	77
Table 4. Odds ratio of joint effect between tow genes on total cervical cancer less than 40 years at diagnosis	78
Table 5. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of several genes on invasive cervical cancer among HPV positive subjects	79

Table 1. Odds ratio of joint effect for gene and environmental factors on total cervical cancer

Category				smoking	husband's smoking	Parity	education	intercourse
				Current	≥20cig/day	2+	≤6 year	≤22 age
				2.5**	1.7**	1.1	2.3**	2.3**
Gene								
Tumor suppressor	P53	GG	1	2.4*	1.8**	1.1	3.0**	2.4**
Tumor suppressor	P21	AA	0.8	3.1**	1.8**	1.9**#	2.8**	2.3**
Tumor suppressor	FHIT	TC/CC	1.2	4.5**	2.2**	1.5	3.3**	3.0**
Tumor suppressor	RASSF1	GG	1.3	2.9**#	2.9**	0.9#	2.9**	3.1**
Metabolism	MTHFR	TT	1.1	3.5**	1.9**	1.2	2.5**	2.4**
Metabolism	GSTP1	GA/GG	1	4.0**	2.0**	1.0#	3.1**	3.1**#
Immune	IRF1	TT/TC	1.2	3.2*	1.9**	1.6*	3.6**	3.1**#
	TNFA238	GG	0.9	2.9**	1.2#	1.6	2.2**	3.2**
	TNFA308	AA/GA	1	2.9*	2.2**	1.6	2.4*	3.6*

^a Adjusted for age and education level

* P<0.05, ** P<0.01

P for interaction<0.05, ## P for interaction<0.01

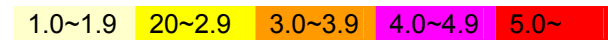


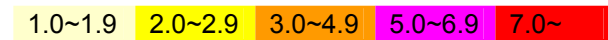
Table 2. Odds ratio of joint effect for gene and environmental factors on total cervical cancer less than 40 years at diagnosis

Category				smoking	husband's smoking	parity	education	Intercourse
				Current	≥20cig/day	2+	≤6 year	≤22 age
				1.9	1.6**	1.9**	1.1	2.7*
Gene								
Tumor supressor	P53	GG	1	2	1.7*	1.8*	1.6	3.2**
Tumor supressor	P21	AA	1	2.7*	1.7*	2.3**	2.4	2.8*
Tumor supressor	FHIT	TC/CC	1.1	3.9*	2.1*	2.3*	1.7	3.7**#
Tumor supressor	RASSF1	GG	1.6*	3.7**	3.4**	1.7#	1.8	5.2**
Metabolism	MTHFR	TT	1.3	3.8	2.2*	2.6**	1.1	3.2**
Metabolism	GSTP1	GA/GG	1.1	3.4**	2.2*	1.8*#	2	3.4**
Immune	IRF1	TT/TC	1	2.9	2.0*	2.3*	1.4	3.1**#
	TNFA238	GG	0.9	2.2	1.1#	3.1	4.3	2.6**
	TNFA308	AA/GA	0.9	3.2*	2.2**	2.1*	1.6	3.1

^a Adjusted for age and education level

* P<0.05, ** P<0.01

P for interaction<0.05, ## P for interaction<0.01



Tables 3. Odds ratio of joint effect between two genes on total cervical cancer

Gene function	Gene	Genotype	Immune			Metabolism		Tumor suppressor		
			TNFA303	TNFA238	IRF1	GSTP1	MTHFR	RASSF1	FHIT	P21
			AA/GA	GG	TT	GA/GG	TT	GG	TC/CC	AA
Tumor suppressor	P53	GG	1.1	1.2	1.2	1.3	1.1	1.8*#	1.2	1.1
Tumor suppressor	P21	AA	0.9	1.2	1.1	0.9	2.0#	1.2	1.2	
Tumor suppressor	FHIT	TC/CC	1.1	1.9	1.6*	1.3	1.6*	1.4		
Tumor suppressor	RASSF1	GG	1.4	1.3	1.2	1.4	1.4			
Metabolism	MTHFR	TT	1.8	1.3	1.4	1.5*#				
Metabolism	GSTP1	GA/GG	0.8	1.4	1.2					
Immune	IRF1	TT	1.1	1.5						
Immune	TNFA238	GG	1.4							

^a Adjusted for age and education level

* P<0.05, ** P<0.01

P for interaction<0.05, ## P for interaction<0.01



Tables 4. Odds ratio of joint effect between tow genes on total cervical cancer less than 40 years at diagnosis

Gene fuction	Gene	Genotype	Immune			Metabolism		Tumor supressor		
			TNFA303	TNFA238	IRF1	GSTP1	MTHFR	RASSF1	FHIT	P21
			AA/GA	GG	TT	GA/GG	TT	GG	TC/CC	AA
Tumor supressor	P53	GG	0.6	0.7	1	1.2	1.4	2.2*	1.1	1.1
Tumor supressor	P21	AA	1.3	1.1	1.2	1	2.2	1.3	1.3	
Tumor supressor	FHIT	TC/CC	1.1	2	1.7*#	1.3#	2.0*	1.6		
Tumor supressor	RASSF1	GG	1.2	1.6	0.3*#	2.1*	2.1*			
Metabolism	MTHFR	TT	2.4	1.9	2.1*	1.7*#				
Metabolism	GSTP1	GA/GG	0.6	1.5	1.1					
Immune	IRF1	TT	1.3	1.5						
Immune	TNFA238	GG	2							

^a Adjusted for age and education level

* P<0.05, ** P<0.01

P for interaction<0.05, ## P for interaction<0.01



Table 5. Odds ratio (OR) of polymorphic genotypes of several genes on invasive cervical cancer among HPV positive subjects^a

Gene	SNP	CONTROLS		CANCERS		OR ^a	95%CI ^b
		N	%	N	%		
FHIT	TT	1	16.7	5	35.7	1	
	TC	4	66.7	8	57.1	0.5	0.1–5.9
	CC	1	16.7	1	7.1	0.3	0.1–11.5
GSTP1	AA	37	69.8	12	75	1	
	GA/GG	16	30.2	4	25	0.7	0.2–2.7
MTHFR	CC	16	30.2	4	25	1	
	CT	19	35.9	8	50	1.6	0.4–6.5
	TT	18	34	4	25	0.9	0.2–4.1
P53	GG	23	39.7	8	30.8	1	
	GC	29	50	13	50	1.3	0.4–3.8
	CC	6	10.3	5	19.2	2.8	0.6–12.6
RASSF1	TT/GT	13	24.5	2	7.4	1	
	GG	40	75.5	25	92.6	3	0.6–15.6
TNFA238	AA/GA	3	5.6	1	6.3	1	
	GG	51	94.4	15	93.8	0.9	0.1–9.7

^a Adjusted for age

^b CI: Confidence interval