

# 한국인 구강 편평세포암에서 Glutathione S-transferase와 CYP1A1 유전자의 다형성

차인호<sup>\*\*\*</sup> · 권종진<sup>\*\*\*\*</sup> · 박광균<sup>\*\*\*\*</sup>

연세대학교 치과대학 구강악안면외과학교실\*, 구강생물학교실\*\*,  
구강과학연구소 및 구강종양연구소<sup>\*\*\*</sup>, 고려대학교 의과대학 치과학교실<sup>\*\*\*\*</sup>

**Abstract** (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2002;28:364-371)

## GENETIC POLYMORPHISMS OF THE GLUTATHIONE S-TRANSFERASE AND CYP1A1 GENES IN KOREAN ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA

In-Ho Cha<sup>\*\*\*</sup>, Jong-Jin Kwon<sup>\*\*\*\*</sup>, Kwang-Kyun Park<sup>\*\*\*\*</sup>

*Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Dept. of Oral Biology\*,  
Oral Science Research Center & Oral Cancer Research Center<sup>\*\*\*</sup>, Dental College, Yonsei University.  
Dept. of Dentistry, Medical College, Korea University<sup>\*\*\*\*</sup>.*

Many chemical compopunds are converted into reactive electrophilic metabolites by the oxidative(Phase I) enzymes, which are mainly cytochrome P-450 enzyme(CYPs). Phase II conjugating enzymes, such as glutathione S-transferase(GST), usually act as inactivation of enzymes. Genetic polymorphisms have been found to be associated with increased susceptibility to cancer of the lung, bladder, breast and colorectal. Many of the polymorphic genes of carcinogen metabolism show considerably different type of cancer among different ethnic groups as well as individuals within the same group.

The aim of this study is (1) to establish the frequencies of genetic polymorphisms of GSTM1 and CYP1A1 in Korean oral squamous cell carcinoma(SCC), (2) to associate oral SCC with the risk of these genetic polymorphisms.

The genetic polymorphisms of the GSTM1 and the CYP1A1 genes among 50 Korean oral SCC were analyzed using polymerase chain reaction(PCR).

The results suggest that the homozygote and the mutant type of CYP1A1 MspI polymorphisms may be associated with genetic susceptibility to oral SCC in Korean. A combination of the GSTM1 null type with the homozygote(m1/m1), and the mutant(m2/m2) type of CYP1A1 MspI polymorphisms showed a relatively high risk of oral SCC in Korean. In the smoking group, the GSTM1 wild genotype may be the high risk factor of oral SCC in Korean.

These data coincide with the hypothesis which states that different susceptibility to cancer of genetic polymorphisms exist among different ethnic group and different types of human cancer.

### I. 서 론

상기도 소화관의 관문인 구강은 음식물이나 흡연을 포함하여 환경에 존재하는 아주 다양한 발암 화학물질들에 노출되어 다양한 유전자 돌연변이가 유발되었을 가능성이 있으며, 이 중 발암유

전자나 중앙억제 유전자에 대한 돌연변이 가능성이 높다고 추정할 수 있다. 발암원인 요소들의 상호 작용은 매우 다양하고 복잡한 방법으로 일어나며, 서로 다른 발암원에 대한 노출, 개인별 방어 기전의 차이 등이 대표적인 것이다. 발암기전 연구에서 원인 요소들의 역할은 대사에 관여하는 효소들로 설명이 가능하며, 화학적 발암물질에 대한 임계치 및 개인별 발암 감수성(susceptibility)의 차이를 찾을 수 있는 장점이 있다. 그러므로 선천적인 유전자 변이와 대사효소의 유전자 다형성에서 유전적 감수성을 찾을 수 있다<sup>1)</sup>. 많은 역학 조사 연구에서도 이런 대사효소의 유전자 다형성(genetic polymorphism)이 인체 특정 부위의 암 발생 위험성 과도 상당한 관련이 있음이 보고되었다<sup>2,3)</sup>. Cytochrome P450(CYP) 대사효소의 아과(subfamilies)인

#### 차 인 호

120-752, 서울특별시 서대문구 신촌동 134  
연세대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

#### In-Ho Cha

Dept. of OMFS, Dental College, Yonsei Univ.  
134, Shinchon-Dong, Seodaemoon-Gu, seoul, 120-752, Korea  
Tel: 82-2-361-8764 Fax: 82-2-364-0992  
E-mail: cha8764@yumc.yonsei.ac.kr

\* 이 논문은 1999년도 연세대학교 치과대학 학술연구비의 지원에 의하여 이루어진 것임.

CYP1A1, CYP1D6, CYP2E1의 변화된 표현형과 유전형은 흡연에 의해 유발된 폐암 및 다른 종류의 암과 연관성이 있는 것으로 알려져 있으며<sup>4,5)</sup>, Glutathione S-transferase(GST)와 N-acetyltransferase(NAT) 효소의 결손도 폐암, 위암 및 방광암의 발생과 관련이 있는 것으로 알려져 있다<sup>6)</sup>.

그 동안 발암물질 대사효소의 유전자 다형성에 관한 연구는 주로 폐암, 위암 및 방광암 등에 관한 것이었다. 그러나 구강암에 관한 것은 대부분 두경부암에 포함되어 연구가 되었으며, 인종과 대사효소에 따라서 많은 결과의 차이를 보였다<sup>7-10)</sup>. 국내에서는 Hong 등<sup>11)</sup>이 폐암, 박<sup>12)</sup> 등이 유방암에서 발암물질 대사효소의 유전자 다형성에 대한 연구 결과를 보고하였으나, 아직 구강암에 관한 연구는 보고되지 않았고 다른 인종의 연구 결과를 한국인에게 적용하는 것은 인종적 차이, 생활 환경 및 식이 습관 등이 다르기 때문에 곤란하다.

본 연구의 목적은 (1) 한국인 구강 편평세포암에서 발암물질 대사효소인 CYP1A1과 GSTM1 유전자의 다형성과 구강암 발생 감수성과의 관계를 밝히고, (2) 구강 전암병소에서 구강암으로 진행될 가능성이 있는 환자를 찾아낼 수 있는 분자생물학적 기초를 마련하며, (3) 한국인에 적합한 구강암 예방제의 연구와, 개발된 구강암 예방제에 대한 효과에 대해서도 검증할 수 있는 기초 자료를 얻고자 하는데 있다.

## II. 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

연구대상은 1995년 1월부터 1999년 12월까지 연세대학교 치과대학병원 구강악안면외과에서 구강 편평세포암으로 진단된 환자 중 임상기록의 검토가 가능했던 50예이며, 다른 장기에서 구강 내로 전이된 암종은 제외하였다. 28명은 수술 중 중앙조직의 일부를 채취하여 -70°C의 초저온 냉동고에 보관하였던 것이며, 나머지 27명은 보관되어 있던 파라핀 블록을 이용하였다. 대조군은 만 30세 이상으로 전신적으로 특기할 증상의 병력이 없는 건강한 사람 중 흡연자 및 비흡연자를 각각 25명씩 무작위로 선택하여 일상적인 발치시 남는 구강조직을 채취하여 -70°C의 초저온 냉동고에 보관하였다.

### 2. 연구방법

#### 1) 임상 기록 검토 및 조직 수집

##### (1) 임상 기록 검토

병리조직학적으로 구강 편평세포암으로 확진된 연구대상 환자의 임상 기록을 검토하여 나이, 성별, 발생부위 및 흡연력을 조사하였다. 그리고 대조군은 조직 채취시 문진하여 기록한 흡연 유무, 흡연량, 성별 및 나이를 기록하였다.

##### (2) 흡연자와 비흡연자의 구별 기준

흡연자 군과 비흡연자 군의 기준으로, 흡연자 군은 하루에 1갑

(20개비) 이상을 10년 이상 흡연한 기록을 가진 사람(중간에 흡연을 중지한 경우는 제외)이며, 비흡연자 군은 전혀 흡연한 경험이 없는 사람으로 정하였다.

#### 2) DNA 추출

-70°C에 보관하였던 조직 25 mg을 1.5 ml 미세원심분리관에 담고 미세가위로 아주 작게 자른 후 400 µl PBS를 넣어 조직을 균질화(homogenization)하고 5,000 rpm으로 5분간 원심 분리하였다. 압착결정(pellet)에 400 µl의 효소 완충용액(TE buffer) <10 mM Tris, pH 8.0 + 10 mM EDTA, pH 8.0>을 넣고 5,000 rpm으로 5분간 원심 분리하였다. 조직을 용해(lysis)시키기 위하여 압착 결정에 효소 완충용액(lysis buffer) <10 mM Tris, pH 8.0, 10 mM EDTA, pH 8.0, 0.1 M NaCl, 2% SDS> 700 µl를 넣어 다시 현탁시키고, proteinase K(20 mg/ml) 35 µl를 넣고 2시간 동안 58°C의 물 향온기(water incubator)에서 온침(digestion)시킨 후 10,000 rpm에서 5분간 원심 분리하고 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA를 정화(purification) 및 정제(concentration) 과정을 시행하고 자외선 분광측정기에서 DNA를 정량하였다. 파라핀 블록에서 DNA 추출은 통상의 phenol-chloroform 방법을 이용하였다.

#### 3) 유전자형 분석시험(Genotyping Assays)

##### (1) 중합효소 연쇄반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)

중합효소 연쇄반응은 Hayashi 등<sup>13)</sup>의 방법에 따라 Gene-Amp PCR System 9600 (Perkin-Elmer, Cetus Corp., Norwalk, CT, U.S.A.)을 사용하였다. 반응 혼합물은 genomic DNA 1 µg, 20 pmole의 각 시발체(primer), 20 pmole dNTP 2.5 mM, Taq 중합효소 5U/µl (Perkin-Elmer), 10x buffer 3 µl, MgCl<sub>2</sub>: 1.5 µl, 멸균수 19 µl를 반응 시켰다. 시발체는 모두 TaKaRa Custom DNA 회사 제품을 사용하였다.

##### (2) GSTM1 gene loci의 결손(deletion) 분석<sup>14)</sup>

중합효소 연쇄반응은 틀 DNA 변성(denaturation, 94°C) 1분, 시발체 결합(annealing, 63°C) 1분, DNA 합성(extension, 72°C) 1분의 반응을 30회 반복하였다. 시발체는 GSTM1-A, 5'-GAACCTCCTGAAAAGCTAAAGC-3' (sense)과 GSTM1-B, 5'-GTTGGGGTCAAATATACGGTGG-3' (antisense)을 사용하였다. Null type을 확인하기 위해 internal standard(house keeping gene)로 항상 268bp에서 DNA band를 나타내는 β-globin을 사용하였다. 시발체는 β-globin-1, 5'-CAACTTCATCCACGTTCCACC-3' (sense)과 β-globin-2, 5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3' (antisense)을 사용하였다. 반응산물은 1.8% Agarose Gel에서 전기영동(electrophoresis)하고 UV transilluminator에서 관찰하였다.

항상 268 bp에서 반응산물을 보이는 β-globin으로 중합효소 연쇄반응계에 문제가 없는 것을 확인하고, 215 bp에서 GSTM1의 반응산물 여부를 관찰하여 반응산물이 있는 경우를 wild

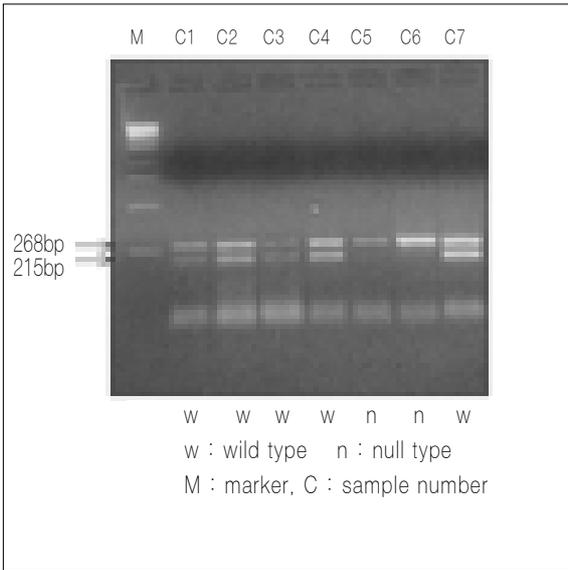


Fig. 1. GSTM1 Genotyping

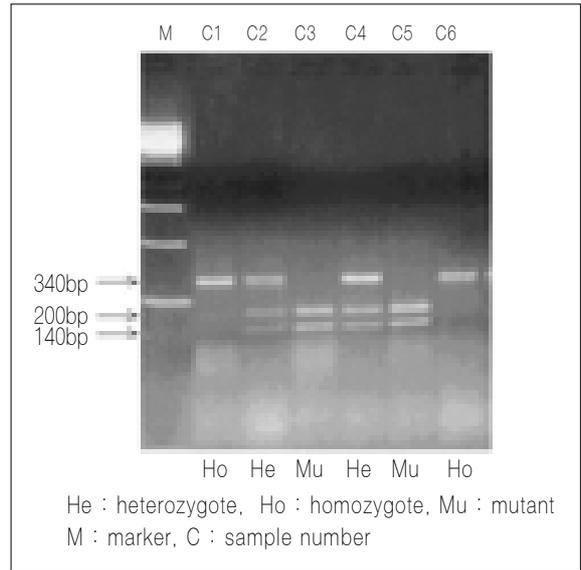


Fig. 2. CYP1A1 *Msp I* polymorphism

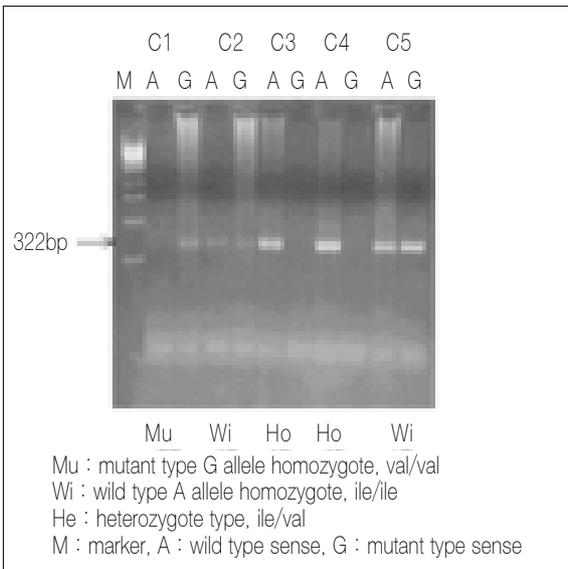


Fig. 3. CYP1A1 exon 7 (Ile/Val) polymorphism

type, 반응산물이 없는 경우를 null type으로 판독하였다(Fig. 1).

(3) CYP1A1 유전자 분석: *Msp I* 다형성 (T to C transition)

중합효소 연쇄반응-제한효소 (PCR-restriction nuclease) 가수분해 분석법을 이용하였다<sup>15)</sup>. 중합효소 연쇄반응은 틀 DNA 변성(95°C) 1분, 시발체 결합(65°C) 1분, DNA 합성(72°C) 1분의 반응을 30회 반복하였다. 시발체는 CYP1A1-A, 5'-TAG-GAGTCTTGCTCATGCGCT-3' (sense)과 CYP1A1-B, 5'-CAGT-

GAAGAGGTGTAGCCGCT-3' (antisense)을 사용하였다. 반응산물은 *Msp I*(15 units) 제한효소를 이용하여 1시간 동안 37°C의 항온기에서 가수분해하고 1.8% Agarose Gel에서 전기영동 하고 UV transilluminator에서 관찰하였다. 그 결과를 동형접합체 (homozygote, m1/m1)는 반응산물이 340 bp에서만 나타나며, 돌연변이체 (mutant, m2/m2)는 200 bp와 140 bp의 위치에서 반응산물을 보이고, 이형접합체 (heterozygote, m1/m2)는 340 bp, 200 bp와 140 bp 위치에서 반응산물을 보이는 것으로서 판독하였다(Fig. 2).

(4) CYP1A1 유전자 분석: Ile/Val 다형성 (A to G transition)

대립유전자-특이 중합효소 연쇄반응 증폭 (allele-specific PCR amplification) 방법을 이용하였다<sup>13)</sup>. 중합효소 연쇄반응은 틀 DNA 변성(94°C) 1분, 시발체 결합(70°C) 1분 30초, DNA 합성(72°C) 1분 30초의 반응을 25회 반복하였다.

시발체는 CYP1A1-2A, 5'-AAGACCTCCCAGCGGGCAAT-3' (wild type sense), CYP1A1-2G, 5'-AAGACCTCCCAGCGG-GCAAC-3' (mutant type sense), CYP 1A1-C, 5'-GAAAG-GCTGGGTCCACCTCT-3' (antisense)를 사용하였다. 중합효소 연쇄반응 산물을 1.8% Agarose Gel에서 전기영동 하고 U V transilluminator에서 관찰하였다. 그 결과는 wild type 시발체로 증폭했을 때 322 bp에서 반응산물이 확인되고, mutant type 시발체로 증폭했을 때, 반응산물이 보이지 않는 경우를 wild type A 대립유전자 동형접합체 (allele homozygote, ile/ile), 그 반대의 경우를 mutant type G 대립유전자 동형접합체 (allele homozygote, val/val), 양쪽 모두에서 반응 산물을 보이는 경우를 이형접합체 (heterozygote type, ile/val)으로 판독하였다(Fig. 3).

4) 통계학적 분석

구강 편평세포암에서 GSTM1 및 CYP1A1 대사효소의 유전적 다형성과 구강암 발생과의 관계를 Chi-Square test로 평가하였다. 그리고 흡연 유무에 따른 분석은 흡연 유무가 혼란변수로 판단될 때는, 이것의 영향을 만텔-한젤(Mantel-Haenszel) 방법으로 통제된 결과를 해석하였다.

Ⅲ. 연구결과

1. 임상적 분석

1) 나이 및 성별 분포

구강암은 흡연자와 비흡연자 모두에서 60대가 가장 많이 발생

하였다(Table 1).

남자가 여자에 비해서 구강암이 약 2.5배 많이 발생하였으며, 남자 환자군에서 흡연자가 비흡연자에 비해서 3.5배 더 많이 발생하였다(Table 2).

2) 발병 부위별 분포

발병 부위별 분포는 하악 치은 15명, 상악 치은 11명, 혀 11명, 협점막 4명, 후구 삼각부 3명, 구강저부 3명, 입술 2명 및 연구개 부 1명으로 총 50명이었다.

2. 실험결과

1) 환자군과 대조군간의 GSTM1과 CYP1A1 유전자형의 분포

Table 1. Age distribution

		20s	30s	40s	50s	60s	70s	80s	Total	Avg.
Case	S	0	2	1	7	11	5	2	28	63.2
	Non-s	1	0	3	3	14	0	1	22	60.5
	Total	1	2	4	10	25	5	3	50	62
Control	S	0	4	11	5	4	1	0	25	50.2
	Non-s	0	5	5	5	4	4	2	25	56.8
	Total	0	9	16	10	8	5	2	50	53.5

S: smoking Non-s:non-smoking Avg.:average

Table 2. Sex distribution

		Male	Female	Total
Case	S	28	0	28
	Non-s	8	14	22
	Total	36	14	50
Control	S	24	1	25
	Non-s	6	19	25
	Total	30	20	50

S: smoking Non-s:non-smoking

Table 3. Distribution of GSTM1 genotypes

Group	No.	wild type	null type	OR	95% CI	P
Cases	50	26	24			
Controls	50	25	25	1.083	0.494-2.373	0.841

OR : odd ratio, CI : confidence intervals, P : P value

Table 4. Distribution of CYP1A1 genotypes (MspI)

Group	No.	m1 / m1	m1 / m2	m2 / m2	OR	95% CI	P
Cases	50	12(24)	20(40)	18(36)			
Controls	50	8(16)	34(68)	8(16)			0.016
		*	**		2.550	0.891- 7.297	0.077
			**	*	3.825	1.408-10.390	0.007

( ) : %, OR : odd ratio, CI : confidence intervals, P : P value

\*\* : OR=1.0, \* : OR=relative OR to \*\*

**Table 5.** Distribution of CYP1A1 genotypes (Ile/Val)

Group	No.	ile/ile	ile/val	val/val	OR	95% CI	P
Cases	50	10(20)	38(76)	2(4)			
Controls	50	5(10)	44(88)	1(2)			0.295
		*	**		2.316	0.727- 7.372	0.148
			**	*	2.316	0.202-26.553	0.488

( ) : %, OR : odd ratio, CI : confidence intervals, P : P value

ile : isoleucine, val : valine

\*\* : OR=1.0, \* : OR=relative OR to \*\*

**Table 6.** Distribution of GSTM1 genotypes according to smoking

Group	No.	wild type	null type	OR	95% CI	P
S	Case	28	18			
	Control	25	9	3.200	1.039-9.852	0.040
Non-s	Case	22	8			
	Control	25	16	0.321	0.098-1.059	0.059

OR : odd ratio, CI : confidence intervals, P : P value S: smoking Non-s:non-smoking

**Table 7.** Distribution of CYP1A1 *MspI* genotypes according to smoking

Group	No.	m1 / m1	m1 / m2	m2 / m2	OR	95% CI	P
S	Case	28	8(28.6)	11(39.3)			
	Control	25	2(8)	20(80)			0.011
		*	**		2.577	0.917- 7.243	0.015
			**	*	3.827	1.425-10.280	0.021
Non-s	Case	22	4(18.2)	9(40.9)			
	Control	25	6(24)	14(56)	0.294		
		*	**		1.037	0.227- 4.728	0.963
			**	*	2.800	0.706-11.097	0.138

( ) : %, OR : odd ratio, CI : confidence intervals, P : P value

\*\* : OR=1.0, \* : OR=relative OR to \*\*

S: smoking Non-s:non-smoking

**Table 8.** Distribution of combination the GSTM1 null type and CYP1A1 *MspI* genotype

Group	No.	m1 / m1	m1 / m2	m2 / m2	OR	95% CI	P
Case	24	7(29.2)	8(33.3)	9(37.5)			
Control	25	5(20)	17(68)	3(12)			0.038
		*	**		2.684	0.927-7.769	0.132
			**	*	3.764	1.421-9.967	0.015

( ) : %, OR : odd ratio, CI : confidence intervals, P : P value

\*\* : OR=1.0, \* : OR=relative OR to \*\*

환자군과 대조군간의 GSTM1 유전자형의 분포는 환자군에서 wild type이 2명 많았지만 통계학적인 유의성은 없었다(Table 3).

CYP1A1 MspI 유전자 다형성의 분포는 대조군과 환자군 간에 통계학적으로 유의성이 있었다. 발현빈도가 가장 높은 이형접합체(m1/m2) 유전자형을 기준으로 m1/m1, m2/m2 유전자형을 가진 경우에 구강암 발생 위험성이 높았다(Table 4).

CYP1A1 exon 7 (Ile/Val) 유전자 다형성의 분포는 환자군과 대조군 간에 통계학적인 유의성은 없었다. 그리고 이형접합체(ile/val) 유전자형에 비해 동형접합체(ile/ile) 유전자형을 가진 사람이 구강암 발생 위험성이 높았다(Table 5).

## 2) 흡연과 관련한 GSTM1과 CYP1A1 유전자형의 분포

GSTM1 유전자형의 흡연 유무에 따른 결과는 흡연자군에서는 환자군과 대조군간에 통계학적인 유의성이 있었으며, 흡연자의 경우 GSTM1 wild type 유전자형을 가진 사람이 null type 유전자형을 가진 사람에 비해 구강암 발생 위험성이 높았다(Table 6).

흡연자에서 CYP1A1 MspI 다형성은 환자군과 대조군간에 통계학적인 유의성이 있었으나 비흡연자에서는 통계학적인 유의성이 없었다(Table 7).

## 3) GSTM1과 CYP1A1 MspI 유전자 다형성 조합의 분포

GSTM1 null type 유전자형인 경우와 CYP1A1 MspI 다형성의 유전자형 조합에서 환자군과 대조군 간에 통계학적으로 유의성이 있었으며, GSTM1 null type 유전자형이면서 CYP1A1 MspI 다형성의 동형접합체 및 돌연변이체 유전자형인 경우에 구강암 발생 위험성이 높았다 (Table 8).

## IV. 고 찰

대부분의 발암 화학물질이나 독성 물질들은 인체 내에서 대사 활성화가 되어야만 생물학적인 효과를 나타낼 수 있다. 많은 화합물들은 cytochrome P-450과 같은 제1상(phase I) 효소에 의해서 가수분해, 산화 및 환원작용으로 1차 대사산물을 형성한다. 이렇게 형성된 1차 대사산물은 불활성화 효소로 알려진 GST, NAT 및 UDP-glucuronosyltransferase같은 제2상(phase II) 효소에 의해서 메틸화(methylation), 글라이쿠로나이트화(glucuronidation), 황산염화(sulfation), 축합(conjugation)반응 과정 등을 거쳐서 2차 대사산물을 형성한다. 인체 내에 생성된 1, 2차 대사산물은 각각의 단계에서 소변, 대변 및 담즙 등을 통해서 체외로 대부분 배설된다. 그러나 배설되지 못하고 남아있는 화합물들은 숙주세포를 죽이거나 DNA 부가물을 형성하여 돌연변이를 일으키고, 그 중에서 일부가 암을 유발한다<sup>6,16)</sup>.

발암물질의 대사에 관여하는 cytochrome P450 및 glutathione S-transferase 등이 개인마다 발현 양상의 차이를 보인다는 것에 착안하여 개인별 대사와 발암 감수성에 대한 연구

가 유전자 수준에서 활발히 진행되었다<sup>1,10,17,18)</sup>. 그러나 연구대상이 특정효소에 의해서 대사될 수 있는 화합물에 노출되고 일정 수준이상 발암물질에 노출되어야만 발암 위험성과 관련이 있을 수 있으므로 각 개체의 노출 정도가 다른 경우 일치되지 않은 결과를 보일 수도 있다<sup>6,19,20)</sup>. 이것은 암 발생 위험도와 유전자 다형성과의 상관성이 특정 암종에서 국한되어 나타나고, 인종간에도 유전자 다형성이 다를 수 있으며, 최종 발암 물질로 전환되는데 한 종류 이상의 대사효소가 작용할 수 있고, 손상된 DNA를 회복할 수 있는 능력이 개인간에 차이가 있기 때문이다<sup>1,17,21)</sup>. 본 연구에서도 발병부위가 다른 폐암과 방광암은 물론이고, 발병부위가 비슷한 두경부암과 구강암에서만 비교를 하여도 일본인, 대만인 및 코카시안에서 여러 가지 다른 결과를 보였다.

대사효소의 유전자 다형성을 연구하기 위한 환자군의 자료는 대부분 수술이나 조직 생검을 위하여 얻은 조직의 일부분을 사용하고 대조군은 조직을 직접 얻기 어려워 혈액에서 분리한 백혈구를 이용하였다. 그러나 혈액을 이용하는 방법은 혈액 채취에 따른 여러 가지 불편감과 의료비용이 문제가 된다. 최근에는 이런 문제점을 해결하기 위하여 구강을 세척(mouth wash)하여 얻은 타액상피에서 DNA를 추출하는 방법도 소개되고 있다<sup>22)</sup>. 본 연구에서는 대조군을 받치시 버려지는 치은조직을 이용하였으며, 대조군으로 비교적 쉽게 이용할 수 있는 조직이라고 사료된다.

## 1. Glutathione S-transferase의 다형성(GSTM1)

GSTs는 친전자성 외부 화합물질에 glutathione을 축합시키는 이량체 효소(dimeric enzyme)로 발암 화학물질을 불활성화시켜 배설시킨다. GSTs 계열은 염색체 위치나 염기서열의 동일성에 따라  $\alpha, \mu, \pi$  및  $\theta$ 의 4가지 종류로 분류하며, 화학적 발암물질에 의한 암의 진행에 대항하는 보호 기전을 갖고 있다<sup>23)</sup>. GSTM1 null type 유전형은 Board<sup>24)</sup>가 처음 보고하였으며, 흡연에 의한 폐암 발생을 유의성있게 증가시킨다<sup>25)</sup> 인종간에 발현 빈도의 차이가 매우 크다<sup>26)</sup>. GST  $\mu$  계열(M1-M5)의 하나인 GSTM1은 염색체 1번에 위치하며, benzo[a]pyrene의 유전 독성 대사물질인 benzo[a]pyrene-4, 5-epoxide와 높은 축합 활성을 가진다<sup>27)</sup>. GSTT1이나 GSTP1의 유전자 다형성과 구강 및 두경부암 감수성과의 상관관계에 대한 연구들에서도 인종이나 암 발생 부위마다 GSTM1 유전자형의 발현 빈도가 많은 차이를 보였다<sup>6,13)</sup>. 한국인에서는 폐암<sup>11)</sup>, 유방암<sup>12)</sup>, 본 연구의 환자군과 대조군 등 모두에서 GSTM1 wild type과 null type이 각각 약 50% 정도를 보였으며, 유방암<sup>12)</sup>의 경우에는 GSTM1 null type인 경우에 위험성이 약간 증가되었다. Nomura 등<sup>9)</sup>은 GSTM1이나 aldehyde dehydrogenase 2 유전자 결손형일 경우에 구강암 발생 위험성이 높다고 하였으나, Park 등<sup>10)</sup>은 코카시안에서 구강암 발생위험도는 GSTM1 null type 유전자형과 관련이 없다고 하였다. Nomura 등<sup>9)</sup>과 Tanimoto 등<sup>8)</sup>의 경우에는 같은 일본인 구강암을 대상으로 하였는데 서로 상반된 결과를 보고하였다. 본 연구에서는 전체 환자군에서는 GSTM1의 유전자형

과 구강암 발생 위험성과는 관련이 없었으나(Table 3), 흡연자군에서는 null type 보다 wild type이 구강암 발생 위험성이 높았고, 비흡연자군에서는 null type의 구강암 발생 위험성이 높았다(Table 6). 그러나 흡연자군에서 환자군은 모두 남자이며 대조군도 1명의 여자를 제외하고는 모두 남자였기 때문에 향후 성별에 따른 GSTM1 유전자형과 구강암 발생 위험성 관계에 대한 연구도 필요할 것으로 사료된다. 본 연구 결과로는 GSTM1 유전자형이 구강암에서 단독적으로 발암 물질의 해독에 관여하는 것으로는 볼 수 없으며, null type이나 wild type이 환자군과 대조군 모두에서 거의 50%씩 분포하기 때문에 다른 대사효소 유전자의 다형성과 상호 작용을 할 때, 비로소 구강암 발생 위험성을 증가시키거나 억제시킬 수 있다고 사료된다.

## 2. Cytochrome P450의 다형성 (CYP1A1)

Cytochrome P450 동위효소(CYP450 isoenzyme)는 발암이나 세포독성을 가진 화합물의 대사에 중요한 역할을 하는 상과(superfamily) 효소다. 염색체 15번에서 7개의 exon으로 구성되며, 개체 유전자의 상동성(homology) 정도나 단백질의 아미노산 구조에 따라서 여러 가지 군으로 대별한다<sup>5,26)</sup>. 중앙 감수성과 관련된 CYP1A1 대사효소의 유전자 다형성은 3' non-coding 구역에서 MspI 다형성, exon 7의 heme-binding 부위에서 adenine이 guanine으로 하나의 염기가 치환되는 다형성(Ile-Val) 및 아프리카-아메리칸에서 특이하게 MspI restriction fragment length polymorphism(RFLP)을 보이는 intron 7에 대한 것이 주로 연구되어져 왔다<sup>1,5,15,29)</sup>. 본 연구는 이중에서 흡연 등과 관련하여 신체 각 부위의 발암 위험성과 관련이 있는 것으로 알려져<sup>1,5,15)</sup> CYP1A1 MspI과 CYP1A1 exon 7(Ile-Val)의 유전자 다형성에 관한 것이다. CYP1A1 유전자에서 MspI 다형성을 분석하기 위한 방법으로는 Southern blot 분석법과 중합효소 연쇄반응-제한효소 가수분해 분석법이 주로 이용되며, 두 가지 분석방법이 결과에서는 거의 일치됨이 증명<sup>1)</sup>되었기 때문에, 본 연구에서는 보다 간편한 중합효소 연쇄반응-제한효소 가수분해 분석법을 이용하였다.

MspI 다형성은 많은 동형접합체(predominant homozygous m1 allele, genotype A), 이형접합체(heterozygote, genotype B), 드문 동형접합체(homozygous rare m2 allele, genotype C)로 구별한다<sup>4)</sup>. 서양인들의 연구 대조군에서는 대부분 m1/m1의 발현빈도가 높고, m2/m2의 발현빈도가 매우 낮았다. 그러나 일본인과 한국인의 폐암 군에서는 m1/m1과 m1/m2의 발현 빈도가 비슷하고 m2/m2의 발현 빈도는 낮았지만 서구인들보다는 대체로 높았다. Tanimoto 등<sup>8)</sup>은 m2/m2 유전자형 발현과 구강암 발생 위험성과 밀접히 관련되어 있다고 하였다. 본 연구에서는 대조군과 환자군간에 통계학적인 유의성이 있었으며, 대조군에서는 m1/m2 유전자형의 발현 빈도가 가장 높았다. 환자군에서는 m1/m2 유전자형의 발현 빈도는 대조군에 비해 낮았으며, m1/m1과 m2/m2 유전자형의 발현 빈도가 대조군에 비해서 현저히 높았다. 한국인 구강암

의 경우에는 m1/m2 유전자형에 비해 m1/m1과 m2/m2 유전자형이 구강암 발생 위험성이 높았다(Table 4). 흡연과 관련한 CYP1A1 MspI 유전자형의 발현 빈도는 흡연자군에서는 통계학적인 유의성이 있었으나 비흡연자군에서는 유의성이 없었다(Table 7). 흡연자에서 대조군은 80%가 m1/m2 유전자형이었으나 환자군에서는 39.3%로 발현빈도가 낮았고, m1/m1과 m2/m2 유전자형의 발현 빈도는 각각 28.6%, 32.1%로 대조군에 비해서 높았다. 흡연자군에서는 m1/m2 유전자형을 기준으로 볼 때 m1/m1, m2/m2 유전자형일 경우 구강암 발생 위험성이 각각 2.58배, 3.83배로 증가하였다.

CYP1A1 exon 7 (Ile/Val) 다형성을 분석하기 위해서는 대립유전자-특이 중합효소 연쇄반응 증폭방법과 single-strand conformational polymorphism(SSCP) 방법이 주로 이용되며<sup>15)</sup>, 두 방법의 결과는 직접염기 서열분석에 의해서 일치됨이 증명<sup>1)</sup>되어서, 본 연구에서는 간편한 방법인 대립유전자-특이 중합효소 연쇄반응 증폭방법을 이용하였다.

CYP1A1 exon 7 다형성이 일본인<sup>19)</sup>, 브라질인<sup>30)</sup>을 대상으로 한 연구에서는 폐암 발생 위험성을 증가시켰으나, 핀란드인<sup>28)</sup>에서는 폐암 발생 위험성과 관련이 없었다. 한국인의 폐암에서는 폐암 환자군이 대조군에 비해서 ile/val 유전자형의 발현 빈도가 편평세포암군에서 특히 낮았다<sup>11)</sup>.

Park 등<sup>10)</sup>이 코카시안 구강암 환자에서 CYP1A1 exon 7의 유전자 다형성에 관해서 처음으로 연구하였으며, 흡연이나 음주에 관계없이 CYP1A1 exon 7의 유전자 다형성이 구강암 발생 위험성을 증가시킨다고 하였다. 그러나 Tanimoto 등<sup>8)</sup>은 일본인의 구강암 환자에서 이형접합체 유전자형이 환자군에서 약간 증가하는 정도라고 하였다. 본 연구에서는 환자군과 대조군 모두에서 이형접합체의 발현 빈도가 가장 높았고, 환자군에서는 대조군에 비해 이형접합체 유전자형의 발현 빈도가 높았으나 통계학적인 유의성은 없었다. 그리고 흡연유무와 관련한 연구 조사에서도 통계학적인 유의성이 없었다. 따라서 한국인 구강암에서는 CYP1A1 exon 7의 ile/val 다형성이 단독적으로는 구강암 발생의 위험성에 직접적으로 관여하지는 않는 것으로 사료된다.

## 3. GSTM1과 CYP1A1 유전자 다형성의 복합작용

최종 발암 물질로 전환되는데 보통 다양한 대사효소의 다형성이 활성작용과 해독작용의 불균형을 유발하여 발암과정에서 상승적으로 작용할 수 있기 때문에 제1상과 제2상 효소의 유전자 다형성을 서로 연관시켜 연구하였다<sup>17)</sup>. 본 연구에서 조사한 세가지 유전적 다형성의 상호 관련성에서, GSTM1 null type 유전자형과 CYP1A1 MspI 유전자형의 조합이 통계적으로 유의성 있는 결과를 보였다(Table 8). 흡연 유무에 관계없이 전체 환자군에서 GSTM1 null type 유전자형을 가진 경우에 m1/m2 유전자형이 대조군에 비해 환자군에서 발현 빈도가 현저히 낮았으며, m1/m1, m2/m2 유전자형을 가진 경우에 구강암이 발생할 위험성이 높다고 할 수 있다. 이것은 어떤 한가지 대사효소에서의 유전적 다형성이 직접적인 구강암 발생의 위험성을 증가시키는

것보다는 여러 가지 대사효소의 다양한 유전자 다형성이 복합적으로 구강암의 발생 위험성을 증가시키는 것으로 사료된다.

## V. 결 론

한국인 구강 편평세포암에서 발암물질 대사효소 GSTM1과 CYP1A1의 유전자 다형성에 관한 연구에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 한국인에서 흡연 유무를 배제하면, 환자군과 대조군 전체에서는 CYP1A1 MspI과 CYP1A1 exon 7의 유전자 다형성은 모두 이형접합체가 동형접합체나 돌연변이체보다 발현빈도가 높았으며, GSTM1 유전자형은 wild type과 null type이 비슷하게 발현 되었다.
2. 한국인에서는 CYP1A1 MspI 동형접합체와 돌연변이체의 유전자 다형성을 가진 경우, 제2상과 제1상 효소를 조합시켰을 경우에는 GSTM1 null type이면서 CYP1A1 MspI 동형접합체와 돌연변이체의 다형성을 가진 경우, 그리고 흡연자군에서는 GSTM1 wild type의 경우에 구강 편평세포암의 발생 위험성이 높다고 추정할 수 있다.

본 연구의 대상이 한국인에 국한되었고, 발병부위도 구강에 한정된 자료를 사용했기 때문에 인종과 해부학적 위치에 따른 유전자 다형성의 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 좀 더 많은 표본수를 이용한 발암물질 대사효소의 유전자 다형성과 구강암 발생 감수성과의 관계를 밝힌다면 구강전암병소 환자 치료와 구강암 예방제 개발에 응용이 가능하다고 사료된다.

## 참고문헌

1. IARC. Metabolic Polymorphisms and Susceptibility to Cancer. Lyon, IARC Scientific Publications, Vol.148, 1999.
2. Perera, F.P., Weistain, I.B. : Molecular epidemiology: recent advances and future directions. Carcinogenesis, 21:517-524, 2000.
3. Wolf, C.R., Smith, C.A.D., Gough, A.C., Moss, J.E., Vallis, K.A., Howard, G., Carey, F.J., Mills, K., McNee, W., Carmichael, J., Spurr, N.K. : Relationship between the debrisoquine hydroxylase polymorphism and cancer susceptibility. Carcinogenesis, 13:1035-1038, 1992.
4. Hirvonen, Ari. : Genetic factors in individual responses to environmental exposures. J. Occupational & Environmental Med., 37:37-43, 1995.
5. Kawajiri, K., Fujii-Kuriyama, Y. : P450 and Human Cancer. Jpn. J. Cancer Res., 82: 1325-1335, 1991.
6. Raunio, H., Husgafvel-Pursiainen, K., Anttila, S., Hietanen, E., Hiroven, A., Pelkonen, O. : Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility- a review. Gene, 159:113-121, 1995.
7. Worrall, S.F., Corrigan, M., High, A., Starr, D., Matthias, C., Wolf, C.R., Jones, P.W., Hard, P., Gilford, J., Farrell, W.E., Hoban, P., Fryer, A.A., Strange, R.C. : Susceptibility and outcome in oral cancer: preliminary data showing an association with polymorphism in cytochrome P450CYP2D6. Pharmacogenetics, 8:433-439, 1998.

8. Tanimoto, K., Hayashi, S-I., Yoshiga, K., Ichigawa, T. : Polymorphisms of the CYP1A1 and GSTM1 gene involved in oral squamous cell carcinoma in association with a cigarette dose. Oral Oncol., 35:191-6, 1999.
9. Nomura, T., Noma, H., Shibahara, T., Yokohama, A., Muramatusu, T., Ohmori, T. : Aldehyde dehydrogenase 2 and glutathione S-transferase M1 polymorphisms in relation to the risk for oral cancer in Japanese drinkers. Oral Oncol.. 36: 42-46, 2000.
10. Park, J.Y., Muscat, J.E., Ren, P., Schantz, S.P., Harwick, R.D., Stern, J.C., Pike, V., Richie, J.P.Jr., Lazarus, P. : CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms and oral cancer risk. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev., 6:791-797, 1997.
11. Hong, Y-S., Chang, J-H., Kwon, O-J., Ham, Y-A., Choi, J-H. : Polymorphism of the CYP1A1 and glutathione-S-transferase genes in Korean lung cancer patients. Experimental and Molecular Medicine, 30:192-198, 1998.
12. 박수경, 강대희, 유근영, 이승준, 김영철, 강한성, 서준석, 안세현, 노동영, 최국진 : 한국인 유방암에서 GSTM1, T1 유전자 다형성의 역할에 관한 환자-대조군 연구 (preliminary report). J. Korean Cancer Assoc., 31:653-662, 1999.
13. Hayashi, S-I., Watanabe, J., Nakachi, K., Kawajiri, K. : PCR detection of an A/G polymorphism within exon 7 of the CYP1A1 gene. Nucleic Acids Res., 19(17):4797, 1991.
14. Deakin, M., Elder, J., Hendrickse, C., Peckham, D., Baldwin, D., Pantin, C., Wild, N., Leopard, P., Bell, D.A., Jones, P., Duncan, H., Brannigan, K., Alldersea, J., Fryer, A., Strange, R.C. : Glutathione S-transferase GSTT1 genotypes and susceptibility to cancer: studies of interactions with GSTM1 in lung, oral, gastric and colorectal cancers. Carcinogenesis, 17:881-884, 1996.
15. Hayashi, S-I., Watanabe, J., Nakachi, K., Kawajiri, K. : Genetic linkage of lung cancer-associated MspI polymorphisms with amino acid replacement in the heme binding region of the human cytochrome P4501A1 gene. J. Biochem., 110:407-411, 1991.
16. Wolf, C.R., Smith, C.A.D., Forman, D. : Metabolic polymorphisms in carcinogen metabolising enzymes and cancer susceptibility. Br. Med. Bull., 50:718-731, 1994.
17. Hayashi, S.I., Watanabe, J., Kawajiri, K. : High susceptibility to lung cancer analyzed in terms of combined genotypes of P4501A1 and Mu-class Glutathione S-transferase genes. Jpn. J. Cancer Res., 83:866-870, 1992.
18. Nimura, Y., Yokoyama, S., Fujimori, M., Aoki, T., Adachi, W., Nasu, T., He, M., Ping, Y.M., Lida, F. : Genotyping of the CYP1A1 and GSTM1 genes in esophageal carcinoma patients with special reference to smoking. Cancer, 80:852-857, 1997.
19. Nakachi, K., Hayashi, S-I., Kawajiri, K., Imai, K. : Association of cigarette smoking and CYP1A1 polymorphisms with adenocarcinoma of the lung by grades of differentiation. Carcinogenesis, 16:2209-2213, 1995.
20. Guengerich, F.P. : Metabolism of chemical carcinogens. Carcinogenesis, 21:345-351, 2000.
21. Hiroven, A., Nylund, L., Kociba, P., Husgafvel-Pursiainen, K., Vainio, H. : Modulation of urinary mutagenicity by genetically determined carcinogen metabolism in smokers. Carcinogenesis, 15:813-815, 1994.
22. Annette, L., Loic, L.M. : A Simple Mouthwash Method for Obtaining Genomic DNA in Molecular Epidemiological Studies. Cancer Epidemiol. Biomark. Prev., 7:719-24, 1998.
23. Pearson, W.R., Vorachek, W.R., Xu, S., Berger, R., Hart, I., Vannais, D., Patterson, D. : Identification of class-mu