

위선암에서 FHIT 유전자 발현이상의 임상적 의의

순천향대학교 의과대학 천안병원 외과학교실, ¹생화학교실

이문수 · 김태윤 · 조규석 · 채만규 · 김성용 · 백무준 · 이상한¹ · 박경규 · 김창호 · 송옥평 · 조무식

Abnormal Fragile Histidine Triad Gene Expression in Gastric Cancer

Moon Soo Lee, M.D., Tae Yun Kim, M.D., Gyu Seok Cho, M.D., Man Kyu Chae, M.D., Sung Yong Kim, M.D., Moo Jun Baek, M.D., Sang Han Lee, M.D.¹, Kyung Kyu Park, M.D., Chang Ho Kim, M.D., Ok Pyung Song, M.D. and Moo Sik Cho, M.D.

Departments of Surgery and ¹Biochemistry, College of Medicine, Soonchunhyatng University, Chunan, Korea

Purpose: Genomic alterations and abnormal expression of the fragile histidine triad (FHIT) gene in gastric cancer were examined to determine whether the FHIT gene is actually a frequent target for alteration during gastric carcinogenesis.

Materials and Methods: To correlate DNA and RNA lesions of the FHIT gene with the effect on FHIT protein expression, in 40 gastric cancers, we investigated the FHIT gene for loss of heterozygosity (LOH), aberrant transcripts, and protein expression.

Results: Allelic loss at D3S1300 was detected in 7 of 38 (19%) informative cases. Aberrant transcripts were observed in 20 of 40 (50%) cases. Significant reduction of FHIT protein expression was observed in 22 of 40 (55%) cases. Aberrant FHIT transcription was shown to be associated with loss of FHIT protein expression. However, aberrant FHIT transcripts themselves were not associated with any clinicopathological parameters, such as age, sex, tumor site, or clinical stage. Moreover, there was no association between the presence of LOH at D3S1300 and the expression of aberrant FHIT transcripts.

Conclusion: The high frequency of aberrant FHIT transcripts, the significant rate of LOH at D3S1300, and the altered expression of the FHIT protein indicate that alterations of the FHIT gene can play an important role in

gastric carcinogenesis. (J Korean Gastric Cancer Assoc 2003;3:26-32)

Key Words: Gastric cancer, FHIT

중심 단어: 위암, FHIT

서 론

오랜 기간 암세포에서 염색체 이상을 발견하면서, 염색체 이상과 암과의 인과관계에 대하여 관심을 갖게 되었다. (1) 암은 여러 종류의 유전자가 변이되어 발생한다는 사실은 널리 알려져 있으며, 이러한 유전자 변이 중 일부는 세포성장을 촉진하는 단백질의 유전자를 불활성화시킴으로써 암을 일으키는 것으로 추정되고 있다. 분자생물학적으로 종양은 종양유전자의 활성화와 종양억제유전자의 불활성화와 연관된 다단계적인 유전자변화가 축적되어 발생하는 것으로 생각된다. 종양억제 유전자는 정상세포에서 세포의 성장과 증식을 억제 또는 조절하는 역할을 하는데, 돌연변이나 대립 유전자 소실로 제 기능을 다하지 못하는 경우에 세포는 조절되지 않는 성장 즉 악성변화를 하는 것으로 생각된다. 정상세포와 암세포 간에 특정 단백질의 조직병리학적 변화와 해당 DNA 및 mRNA 전사체들을 분석하는 방법은 악성 세포들의 특징을 규명하는 매우 유용한 수단으로 이용되어 왔으며 주로 암 유전자, 종양억제인자, 예후를 결정하는 각종 종양표지자 및 세포증식에 관련된 각종 표지자들이 대상이 되었다. 따라서 새로운 종양억제 유전자의 발견은 암발생 원인을 규명하기 위한 필수적인 과제였으며 많은 연구가 집중되어 왔다. 다양한 암종에서 3번 염색체의 단완 부위에는 세포유전학적 이상, 특히 DNA서열의 결손이 높은 빈도로 발생하는 특징적인 3부위, 즉 3p14, 3p21 그리고 3p25가 존재하며, 암 발생과 밀접한 관련성이 있을 3 종류 이상의 종양억제 유전자의 위치가 이 부위에 있을 것으로 추정되어 왔다. 그러나 지난 20년간 집중적인 연구에도 불구하고, 최근에 종양억제 유전자로 추측되는 FHIT (fragile histidine triad)라는 유전자가 염색체 3p14에 위치한 FRA3B에 위치한다는 사실이 밝혀지기까지,

책임저자 : 이문수, 충남 천안시 봉명동 23-30
순천향대학교 천안병원 외과학교실, 330-721
Tel: 041-570-2146, Fax: 041-571-0129
E-mail: hychung@knu.ac.kr

본 논문의 요지는 2002년 대한위암학회 춘계학술대회에서 발표됨.
접수일 : 2002년 12월 18일, 게재승인일 : 2003년 1월 4일

VHL (Von Hippel-Lindau disease) 유전자만이 이 부위에 위치하는 유일한 종양억제 인자로 알려져 왔다. 일부 FHIT-coding exon의 결손과 intron 서열이 삽입되는 비정상적인 FHIT 유전자의 전사체들이 폐, 위장, 간, 유방 및 경부암 등에서 발견되었으며, 이에 수반하여 FHIT 유전자의 DNA서열이 부분적으로 결손되는 현상과 최종 산물인 FHIT단백질의 합성이 저하 혹은 결손되는 등 종양억제 유전자로서의 강력한 증거들이 밝혀졌다.(2-4) FHIT 유전자를 transfection시킨 폐, 신장 및 여러 소화기 계열의 암 세포주에서 종양 형성 능력은 상당히 억제되었으며, nude mice에서 형성된 종양의 크기도 상당히 감소하는 실험결과들이 보고되었다. 또한 암유발 물질에 노출된 장기나, 전구암종 그리고 형태학적으로 정상처럼 보이는 흡연자들의 폐조직에서 FHIT유전자들이 결손되며 이형성 소실(LOH) 현상이 높은 빈도로 발생됨이 알려지면서 FHIT 유전자부위의 결손은 종양 발생 과정 중 매우 초기에 올 수 있는 현상으로, 암 발생의 조기진단이나 암발생을 예측할 수 있는 표지자로서 FHIT의 역할 규명에 활발한 연구가 진행되고 있다. 위암에서의 FHIT 유전자 발현이상의 보고는 많지 않으나, D3S1300에서 대립유전자 소실률을 Noguchi 등(20)은 9.1% (5/55)로 Gemma 등(21)은 27.6% (8/29)로 보고하였다. 이러한 빈도의 차이는 명확하지는 않지만 아마도 위암 발생에 있어 역학적인 차이 때문인 것으로 추측된다. 따라서 본 연구는 한국인에서 호발하는 원발성 위암 조직을 대상으로 비정상 FHIT mRNA 전사체 분석과 FHIT 단백질의 발현을 관찰하여 원발성 위암 발생에서 종양억제 유전자로서 FHIT 단백질의 역할 규명에 대한 기초 자료를 제시하고자 한다.

방 법

1) 대상

순천향대학교 천안병원 외과에서 위선암으로 조직학적 진단을 받고 수술한 40예의 위암 조직과 동일 조직표본의 정상 위 조직을 동결하여 DNA와 mRNA 및 단백질 분석에 이용하였다.

2) 방법

(1) 이형성 소실(Loss of heterozygosity) 분석: FHIT 유전자 부위에 대립유전자 소실을 분석하기 위해 40예의 위암 및 정상조직에서 DNA를 추출하였다. 이형성 소실(LOH)을 분석하기 위한 단순반복서열(microsatellite) 표지자로는 3번 염색체 단위에 위치한다고 알려진 D3S1300(3p21.1-14.2)를 이용하여 중합효소 연쇄반응(PCR)을 시행하였다. 사용한 표지자는 Reserch Genetics사(Huntville, AL, USA)에서 제작된 것을 사용하였다(upstream primer: 5'-AGCTCATTCTAGTCAGCCT-3', downstream primer: 5'-GCCAATTCCTCCAGATG-3'). PCR 반응

혼합액은 5% DMSO, 1.5 mM MgCl₂를 포함한 1 x PCR 완충액, primer R/F 0.4μM, 200 ng template DNA, 2.5 U AmpliTag DNA polymerase (Perkin-Elmer, Norwalk, CT), 200 μM dNTP를 포함하여 총 50μl가 되게 하였다. PCR 조건은 첫단계로 94°C에서 3분간 변성시킨 후 두 번째 단계에서는 94°C에서 30초간, 60°C에서 45초간 72°C에서 30초간 35회 반복시행하고 72°C에서 7분간 연장반응을 시행하였다. 증폭된 유전자는 1차적으로 1%한천 겔에서 전기영동상을 관찰하여 유전자 증폭산물을 확인한 후 PCR 산물 5μl를 loading buffer (98% formamide, 0.1% xylene cyanol, 0.1% bromophenol blue, 10 mM EDTA: PH 8.0)와 혼합하고 95°C에서 5분간 변성시킨 뒤 얼음이 들어있는 수조에서 급냉시켜 8 M urea를 포함한 8% denaturing polyacrylamide gel에서 전기영동한 후 은염색(silver nitrate)을 실시하였다.

정상 세포의 PCR 산물에서는 두 개의 띠로 나타나지만 종양세포에서는 둘 중 하나가 소실되었거나 띠의 밀도가 현저한 차이를 보였을 때 LOH 양상으로 판독하였다. 실험결과 중 동형접합성을 보이는 경우와 띠가 명확치 않거나 종양세포와 대조군 세포중 어느 하나에서라도 띠를 관찰할 수 없어서 유전자 변이를 확인할 수 없는 경우는 통계에서 제외하였다.

(2) Total RNA 분리 및 비정상 전사체 확인을 위한 역전사 중합효소 연쇄반응: 총 RNA의 분리는 Total RNA isolation kit (Ambion Inc, Austin, TX)을 사용하여 분리하였다. 절제된 위암조직을 homogenizer로 균질화한 후 10배 분량의 변성용액을 첨가하여 혼합한 후 동일 분량의 phenol : chloroform : isoamyl alcohol (25 : 24 : 1)을 첨가하여 1분 동안 혼합하여 얼음에 10분간 방치하고 12,000 rpm에서 15분간 원심하였다. 상층액을 새 tube로 옮긴 후 1/10 분량의 sodium acetate 용액과 acidphenol : chloroform용액을 첨가하여 12,000 rpm에서 15분간 원심하였다. 상층액을 새 tube로 옮긴 후 동일 분량의 isopropanol을 첨가하여 -20°C에서 1시간 동안 침전시켰다. 상층액을 제거하고 pellet을 건조시킨 후 50μl RNase-free dH₂O에 녹여 역전사 중합효소 연쇄반응에 사용하였다. 역전사 중합효소 연쇄반응은 5 mM MgCl₂, 1μg RNA, 1mM dNTP, MuLV 역전사효소(Perkin Elmer) 2.5 U를 포함한 총 20μl의 혼합액에서 시행되었다. 시료를 70°C에서 5분간 반응시키고 3분간 oligo d(T)와 annealing한 후 2.5 U MuLV 역전사효소를 첨가하여 1시간 동안 37°C에서 first-strand cDNA의 합성을 진행시켰다. 95°C에서 5분간 처리하여 반응을 정지시킨 후 FHIT를 구성하는 exon들의 서열을 기준으로 합성한 primer가 포함된 반응액을 혼합하여 중합효소 연쇄반응을 시행하였다. 사용한 primer는 5U2 (5'-CATCCTGGAA GCTTTGAAGCTCA-3')과 3D2 (5'-TCACTGGTTGAAGAATACAGG-3')였다.

(3) 면역화학적 분석(Western blotting): SDS-PAGE를 준비한 후 위암조직에서 추출된 단백질을 전기영동하였다. 완

Table 1. Association of Aberrant transcription, LOH, reduction of FHIT protein expression with clinicopathological characteristics of 40 cases in gastric cancer

Variable	No. of cases analyzed (n=40)	Aberrant transcription (n=20)	LOH (n=7)	Reduction of FHIT protein expression (n=22)	p-value
Age, year (M)	59.5	60.2	58.4	59.7	NS
Sex					NS
Male	24 (60%)	12	5	14	
Female	16 (40%)	8	2	8	
Tumor site					NS
Upper 1/3	10 (25%)	5	2	5	
Middle 1/3	6 (15%)	3	1	4	
Lower 1/3	24 (60%)	12	4	13	
Depth of invasion					NS
T1	2 (5%)	1	1	2	
T2	8 (20%)	4	2	2	
T3	20 (50%)	10	2	13	
T4	10 (25%)	5	3	5	
Stage (UICC)					NS
I	8 (20%)	4	1	2	
II	2 (5%)	1	2	2	
III	16 (40%)	8	2	9	
IV	14 (35%)	7	2	9	
Lauren classification					NS
Intestinal	24 (60%)	13	5	15	
Diffuse	15 (40%)	7	2	7	

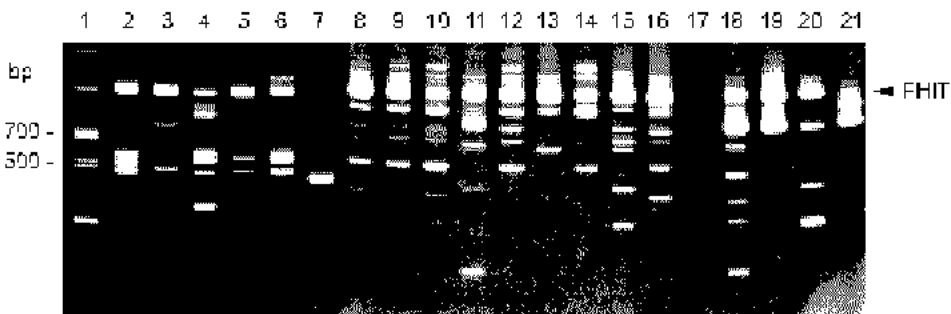


Fig. 1. Aberrant transcripts of the FHIT gene detected in gastric adenocarcinoma by RT-PCR. Normal sized 707-bp transcript is indicated by an arrowhead.

충액속에서 흡착지(nitrocellulose)를 전기이동을 끝낸 겔위에 덮고 24시간 동안 단백질을 이동시켰다. 흡착지를 꺼내 일차항체(rabbit polyclonal anti-GST-FHIT fusion antibodies, Zymed Lab Inc. South San Francisco, CA)원충액에 1시간 반응시킨 후 이차항체(Santa Cruz Inc., Santa Cruz, CA)혼합액에 넣어 1시간 반응시켰다.

결 과

총 40예 중 남자가 24예, 여자가 16예였고, 평균나이는 59.5세였다. 병변의 위치는 상부1/3이 10예, 중부1/3이 6예, 하부1/3이 24예였다. 침윤의 깊이로 보면 T1 2예, T2 8예, T3 20예, T4는 10예였다(Table 1). D3S1300에서 이형성 소실(LOH)은 원발성 위암 40예 중 microsatellite instability (MSI)

Table 2. FHIT gene alteration on gastric adenocarcinoma (n=20)

Case No.	Age	Sex	Tumor site	TNM stage	LOH	FHIT protein expression
1	31	M	Lower 1/3	T4N3M0	+	Down
3	61	F	Middle 1/3	T4N3M0	-	Down
5	53	F	Lower 1/3	T3N1M0	MSI*	Down
6	64	M	Lower 1/3	T3N1M0	-	+
9	75	F	Lower 1/3	T2N0M0	-	+
11	70	M	Upper 1/3	T2N0M0	-	+
13	55	M	Lower 1/3	T3N1M0	-	Down
16	71	F	Lower 1/3	T4N2M0	-	Down
18	52	M	Lower 1/3	T4N3M0	-	Down
20	64	F	Upper 1/3	T3N1M0	-	Down
22	52	M	Lower 1/3	T3N2M0	-	+
22	69	F	Lower 1/3	T3N3M0	-	Down
23	40	F	Lower 1/3	T3N1M0	-	Down
24	52	M	Lower 1/3	T2N0M0	+	Down
26	61	M	Upper 1/3	T4N1M0	+	Down
28	54	M	Upper 1/3	T3N3M0	-	Down
30	68	M	Upper 1/3	T3N2M0	-	Down
32	62	M	Lower 1/3	T2N1M0	+	+
33	79	F	Middle 1/3	T1N1M0	-	Down
34	57	M	Middle 1/3	T3N1M0	-	Down

*microsatellite instability

Table 3. Association of aberrant transcription with LOH, reduction of protein expression of gastric cancer

Variable	FHIT transcription		P-value
	Aberrant	Normal	
LOH	4/20 (20)	3/20 (15)	NS
Reduction of FHIT protein expression	15/20 (75)	7/20 (35)	< 0.05

를 보인 2예를 제외하고 38예 중 7예(19%)에서 있었고, 비정상 FHIT 전사체는 40예 중 20예에서 관찰되었고 비정상 소견을 보인 20예에서는 4예에서만 이형성 소실(LOH)을 보였다(Table 2, Fig. 1). D3S1300에서 이형성 소실과 비정상 FHIT 전사체 발현과의 연관 관계는 없었다. 하지만 총 40예 중 22예에서 FHIT 단백질 발현의 감소를 보였는데, 이 중 이형성 소실(LOH)을 보인 7예 중 6예에서 FHIT 단백질 발현의 감소를 보였다. 대부분의 D3S1300에서 이형성 소실을 보인 예에서 FHIT 단백질 발현의 감소를 보였으나 통계학적 유의성은 없었다. 또한 비정상 FHIT 전사체를 보인 20예

**Fig. 2.** Representative immunoblot analysis of FHIT protein expression in gastric adenocarcinomas (T) and matched normal adjacent tissues (N).

중 15(75%)에에서 FHIT 단백질 발현의 감소를 보였고, 비정상 FHIT 전사체를 보이지 않은 20예의 위암 중 7예(35%)만이 FHIT 단백질 발현의 감소를 보였다(Table 3, Fig. 2). 비정상 FHIT 전사체 발현 유무와 위암 환자의 나이, 성별, 병변의 위치, 깊이, Lauren 분류와의 연관관계는 없었다. 하지만 FHIT 단백질 발현의 감소는 대부분 진행된 위암에서 (stage III-IV) 관찰되었다(Table 1).

고 찰

종양의 발생은 암유전자의 활성화나 암억제 유전자의 불활성화 또는 세포의 정상적인 사멸을 돕는 유전자의 불활

성화 등에 의해 발생 및 진행되지만 이러한 현상이 하나만 작용하여 암발생이 이루어지는 않고 여러 단계에 걸친 유전적 변이가 복합적으로 축적되었을 때 일어나게 된다. 암발생 과정에서 유전적 변이의 한 축을 이루는 암억제 유전자는 정상 성장을 조절하는 단백질을 암호화하고, 간접적으로 종양 성장을 억제한다. 현재까지 밝혀진 종양억제 유전자로 APC, MCC, DCC NF-1 (neurofibromatosis), Rb (retinoblastoma), p53, WT (Wilm's tumor) 등이 알려져 있다. 악성 종양에서는 적어도 4-5개의 유전자 돌연변이가 관찰되고 보다 적은 수의 돌연변이로 인해서 양성 종양이 발생한다고 한다. 또한 이러한 변형의 축적 정도에 의해 종양의 생물학적 성질이 좌우되게 된다.(5,6) 이들 암억제 유전자의 비활성화의 원인으로는 대립유전자의 결손, 유전자의 축적자에서 점돌연변이 등이 있으며 이 중 대립유전자의 결손은 LOH 분석으로 알 수 있다.(6) 유전자 변이를 검사하는 방법에는 DNA cytometry, DNA fingerprinting, LOH 분석법 등이 있는데, 이러한 방법을 통한 유전자 변이는 악성 종양의 약 80% 이상에서 관찰된다.(7,8)

LOH는 염색체 혹은 그 이하에서의 결손으로 인하여 종양억제유전자의 대립형질이 비활성화되는 것을 말하며, 이는 새로운 종양억제유전자의 발견이나 검색에 중요한 방법의 하나이다.(9) LOH 분석에 이용되는 단순반복서열 DNA는 2, 3 혹은 4개의 염기쌍이 기본 단위를 이루어 연속적으로 반복되는 염기서열로서 전체 크기는 수 백 염기쌍 이하이고, 인간의 유전자에는 30,000개 정도가 존재하는 것으로 알려져 있다.(10,11) 이들은 단백질합성에 직접 관여하지는 않지만 동형 재조합 과정에서 어떤 기능을 할 것이라고 생각되어지고 있다.(12) 이 반복되는 DNA는 알려진 각 단순반복서열마다 염색체의 특정위치에 존재하며, 부계와 모계로부터 물려받은 각각 크기가 다른 두 개로 구성되기 때문에 대부분의 경우 이형접합성으로 존재한다. 정상세포와 비교하여 보았을 때 종양세포에서 이형접합성의 소실, 즉 LOH는 해당 단순반복서열의 소실뿐만 아니라 그 인접부위에 위치하는 유전자의 소실을 의미한다고 볼 수 있다.

1996년 Ohta 등(13)이 positional cloning법에 의해 염색체 3p14.2부위에서 FHIT 유전자의 존재를 증명한 이래, 종양억제인자로서 FHIT의 역할을 규명하기 위한 노력은 각종 암 세포주와 원발성 암조직들을 대상으로 진행되어 왔다.

결장암, 식도암 및 위암의 40~50%, 소세포성 폐암의 80%, 비소세포성 폐암의 40% 이상 및 유방암의 30%에서 FHIT 유전자의 비정상적인 전사체들이 나타나며, FHIT 유전자가 각종 종양에서 빈번한 결손을 나타내는 3번 염색체 단완상의 표적 부위였음이 밝혀졌다.(2-4) 최근에는 세포주기 및 세포사멸(apoptosis)과의 관련성을 제시하는 보고가 발표되었으며, FHIT 유전자가 결핍된 knockout mice의 개발로 본격적인 FHIT 단백질의 기능 연구가 시작되고 있지만, 현재까지 FHIT에 관한 국내 연구는 흔하지 않다.

FHIT 유전자가 주목을 받고있는 이유는 전술한 바와 같이 식도, 위, 폐, 유방, 두경부암 등의 여러 종양에서 이 위치의 homozygous deletion이 높은 빈도로 보고된 바 있으며,(13-15) 이 유전자가 가족성 신세포암에서 발견되는 t(3;8)(p14.2;p24) chromosomal translocation의 breakpoint에서 파괴되고, 더욱이 human genome 중 손상에 가장 취약한 곳 중 하나인 FRA3B fragile site를 포함하고 있기 때문이다.(13)

FHIT 유전자는 chromosome 3p14.2 위치에 있는 약 1Mb 정도의 genomic DNA로서 10개의 exon으로 구성되어 있으며 이로부터 1.1 kb의 mRNA가 expression된다.(13) 10개의 exon 중에서도 coding region은 exon 5에서 exon 9까지인데 이로부터 생산되는 16.8kDa의 단백질은 Schizosaccharomyces pombe가 생산하는 diadenosine 5'.5'''-P1, P4-tetraphosphat (Ap₄A)를 ATP와 AMP로 분해하는 효소인 Ap₄A asymmetrical hydrolase와 69%의 유사성을 보이는 것으로 밝혀졌다.(16) 즉, FHIT는 아미노산의 상동성 분석상 diadenosine hydrolase의 기능을 가질 것으로 추정되나 FHIT 단백질이 실제로 세포 내에서 어떠한 기능을 하는지에 대해서는 현재 연구 중에 있다. 다만, 단지 diadenosine을 가수분해만 하는지 아니면 또다른 세포의 성장과 분열에 관련된 어떤 작용을 하는지는 불확실하다.

이러한 dinucleotide oligophosphate metabolism과 tumorigenesis 간의 관련성은 암억제 유전자 중에서도 FHIT 유전자에서 처음으로 제시된 것이라 할 수 있어 더욱 주목을 받고 있다.

Table 4에서처럼 Tamura 등(17)은 23예의 위암에서 비정상적인 FHIT 전사체 발현은 없었으나 LOH는 16예 중 2예(13%)에서 나타났음을 보고한 반면, Baffa 등(2)은 32예의 위암 중 11예(35%)에서 비정상적인 FHIT 전사체 발현 및 면역조직학적 검사상 30예 중 20예(67%)에서 FHIT 단백질

Table 4. Published series of FHIT gene on gastric adenocarcinoma

	Aberrant transcription	LOH	Reduction of FHIT protein expression
Tamura, et al (1997)	0/23	2/16 (13%)	-
Gemma, et al (1997)	-	5/55 (9.1%)	-
Baffa, et al (1998)	11/32 (35%)	-	20/30 (67%)
Noguchi, et al (1999)	-	8/29 (27.6%)	-
Capuzzi, et al (2000)	-	-	27/55 (49%)
Present study	20/40 (50%)	7/38 (19%)	22/40 (55%)

발현의 감소가 있음을 보고하였다. 또한 Capuzzi 등(18)은 55예의 위암 중 27예(49%)에서 면역조직학적 검사상 FHIT 단백질 발현의 감소를 발표하였다. 폐암 조직과 경부암 조직 및 세포주를 이용한 실험에서 FHIT mRNA의 이상과 FHIT 단백질의 발현이 감소되거나 혹은 결여되는 현상간에 직접적인 상관성이 있음이 보고되었으며 유방암 조직을 이용한 또 다른 연구에서도 FHIT 단백질 발현의 저하는 p53, erbB2, estrogen 및 progesterone 수용체의 발현과는 상관성이 없으나 나쁜 예후와 상관성이 높음이 보고되었다.(19) 저자들은 비정상적인 FHIT 전사체 발현이 FHIT 유전자 변이에 기여한다는 것에 근거하여 FHIT 유전자 intron 5 내에 위치하는 단순반복서열 표식자로서 D3S1300을 이용하여 LOH 분석을 해 보았고 그 결과 D3S1300에서 이형성 소실은 원발성 위암 40예 중 microsatellite instability (MSI)를 보인 2예를 제외하고 38예 중 7예(19%)에서 있었고, 비정상 FHIT 전사체는 40예 중 20예에서 보였다. 이형성 소실과 비정상 FHIT 전사체 발현과의 연관 관계는 없었지만 총 40예 중 22예에서 FHIT 단백질 발현의 감소를 보였으며 이형성 소실을 보인 7예 중 6예에서 FHIT 단백질 발현의 감소를 보였다. 또한 비정상 FHIT 전사체를 보인 20예 중 15 (75%)에서 FHIT 단백질 발현의 감소를 보여 상호 연관관계가 입증되었다. FHIT 단백질 발현의 감소가 위암 발생을 초래한다는 직접적인 증거는 아직 밝혀져 있지 않지만, 위암의 유발인자로 알려진 N-nitro 화합물, oxygen radicals, tobacco 대사 산물과 Helicobacter pylori 감염 등이 직, 간접적으로 FHIT 유전자 부위의 fragile region에 영향을 주어 이 유전자의 파괴 혹은 결실 등을 초래함으로써 이들의 carcinogenic potential에 기여하리라 추정해 본다. 또한 본 연구에서 FHIT 단백질 발현의 감소는 대부분 진행된 위암에서 관찰된 것으로 보아 FHIT 유전자의 변형은 위암발생의 초기에 중요한 역할을 할 수 있으며, 다른 종양억제 유전자나 암 유전자 등에 연속적인 유전학적 변화를 초래하여 악성종양으로의 진행에 결정적인 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다. 효모의 5', 5''-P₁, P₄-tetrakisphosphate (Ap4A) hydrolase의 in vivo 기능은 아직까지 명확히 증명되지 않았지만, Ap4A의 증가는 G1-S 세포주기 과정 중에 나타나며 DNA polymerase α 활성을 자극하는 역할을 하지 않나 추정된다. 따라서 본 연구에서 한국인의 원발성 위암조직에서 관찰된 FHIT 활성의 감소 혹은 결여가 Ap4A의 축적을 초래하며 이로부터 DNA 합성 자극이 유발될 수 있음을 생각하나 무엇보다도 FHIT의 생화학적 경로 규명이 중요한 관점이라 하겠다.

결 론

FHIT 유전자는 인간의 3번 염색체 단완 14.2 부위에 위치하며 다양한 부위의 암조직에서 비정상적인 전사체들을 생

성하고 있음이 알려져 있다. 또한 FHIT 단백질은 종양억제 인자로서 기능을 가지고 있는 것으로 추정하고 있다. 본 연구에서는 한국인에서 호발하는 위암에서 FHIT 유전자의 역할을 규명하기 위하여, 먼저 40예의 원발성 위암조직으로 역전사 증합효소 연쇄반응법을 이용하여 FHIT mRNA 전사체의 분석과 FHIT 단백질의 발현을 조사한 결과, 위암은 암 유발인자들에 노출됨으로써 시작하며 이때 FHIT 유전자의 이상을 동반할 가능성이 있고, 따라서 FHIT 유전자는 암유발인자들에 의한 표적이 될 수 있으며, 이로 인하여 초래된 FHIT 유전자의 불활성이 위암 발생에 어떤 역할을 할 가능성이 있는 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Cairns J. The origin of human cancer. *Nature* 1981;289:353-357.
2. Baffa R, Veronese ML, Santoro R, Mandes B, Palazzo JP, Rugge M, Santoro E, Croce CM, Huebner K. Loss of FHIT expression in gastric carcinoma. *Cancer Res* 1998;58:4708-4714.
3. Chen YJ, Chen PH, Chang JG. Aberrant FHIT transcripts in hepatocellular carcinomas. *Br J Cancer* 1998;77:417-420.
4. Bieche I, Latil a, Becette V, Lidereau R. Study of FHIT transcripts in normal and malignant breast tissue. *Genes Chromosom. Cancer* 1998;23:292-299.
5. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppin M. Genetic alterations during colorectal tumor development. *N Engl J Med* 1988;319:525-532.
6. Kinzler KW, Nilben MC, Vogelstein B, Bryan TM, Levy DB. Identification of a gene located at chromosome 5q21 that is mutated in colorectal cancers. *Science* 1991;251:1366-1370.
7. Thein SL, Jeffreys AJ, Gooi HC. Detection of somatic changes in human cancer DNA by DNA fingerprinting analysis. *Br J Cancer* 1987;55:353-356.
8. Peinado MA, Malkhosyan S, Velazquez A, Perucho M. Isolation and characterization of allelic losses and gains in colorectal tumors by arbitrarily primed polymerase chain reaction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:10065-10069.
9. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61:759-767.
10. Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet* 1989;44:388-396.
11. Chalesworth B, Sniegowski P, Stephan W. The evolutionary dynamics of repetitive DNA in eukaryotes. *Nature* 1994;371:215-220.
12. Radman M, Wagner R. Mismatch recognition in chromosomal interactions and specifaicon. *Chromosoma (Berl)* 1993;102:369-373.
13. Ohta M, Inoue H, Cotticelli MG, Kastury K, Baffa R, Palazzo

- J, Siprashvili Z, Mori M, McCue P, Druck T, Croce CM, Huebner K. The human FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3;8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers. *Cell* 1996; 84:587-597.
14. Kastury K, Baffa R, Druck T, Ohta M, Cotticelli MG, Inoue H, Negrini M, Rugge M, Huang D, Croce CM, Palazzo J, Huebner K. Potential gastrointestinal tumor suppressor locus at the 3p14.2 FRA3B site identified by homozygous deletions in tumor cell lines. *Cancer Res* 1996;56:978-983.
15. Sozzi G, Alder H, Torrielli S, Corletto V, Baffa R, Veronese ML, Negrini M, Pilotti S, Pierotti MA, Huebner K, Croce CM. Aberrant FHIT transcripts in Merkel cell carcinoma. *Cancer Res* 1996;56:2472-2472.
16. Huang Y, Garrison PN, Barnes LD. Cloning of the *Schizosaccharomyces pombe* gene encoding diadenosine 5'5'''-P¹,P⁴-tetraphosphate (Ap₄A) asymmetrical hydrolase: sequence similarity with histidine triad (HIT) family. *Biochem J* 1995; 312:925-932.
17. Tamura G, Sakata K, Nishizuka S, Maesawa C, Suzuki Y, Iwaya T, Terashima M, Saito K, Satodate R. Analysis of the FHIT in primary gastric carcinomas and gastric carcinoma cell lines. *Genes Chromosom. Cancer* 1997;20:98-102.
18. Capuzzi D, Santoro E, Hauck WW, Kavatich AJ, Rosato FE, Baffa R, Huebner K, McCue PA. Fhit expression in gastric adenocarcinoma: correlation with disease stage and survival. *Cancer Res* 2000;88(1):24-34.
19. Catalica Z, Lele SM, Rampy BA, Norris BA. The exposure of FHIT protein is related inversely to disease progression in patients with breast carcinoma. *Cancer* 2000;88:1378-1383.
20. Noguchi T, Muller W, Wirtz HC, Willers R, Gabbert HE. FHIT gene in gastric cancer, association with tumour progression and prognosis. *J Pathol* 1999;188:378-381.
21. Gemma A, Hagiwara K, Ke Y, Burke LM, Khan MA, Nagashima M, Bennett WP, Harris CC. FHIT mutations in primary gastric cancer. *Cancer Res* 1997;57:1435-1437.
-