

인체 암의 DNA 메틸화 변화

서울의대 병리학교실, 서울대 암연구소 후성유전학실, BK21 의생명과학 연구사업단

권형주·강경훈

DNA Methylation changes in Human Cancers

Hyeong Ju Kwon and Gyeong Hoon Kang

Department of Pathology, Cancer Research Institute and 2nd stage Brain Korea,
Seoul National University College of Medicine

Epigenetic changes represented by promoter CpG island hypermethylation and histone modification are an important carcinogenetic mechanism, which is found in virtually all histologic types of human cancer. About 60–70% of human genes harbor CpG islands in their promoters and 5' exonal sequences, and some of them undergo aberrant promoter CpG island hypermethylation and subsequent down-regulation of gene expression. The loss of expression in tumor suppressor or tumor-related genes results in acceleration of tumorigenic processes. In addition to regional CpG island hypermethylation, diffuse genomic hypomethylation represents an important aspect of DNA methylation changes occurring in human cancer cells and contributes to chromosomal instability. These apparently contrasting methylation changes occur not only in human cancer cells, but also in premalignant cells. CpG island hypermethylation has gained attention for not only the tumorigenic mechanistic process, but also its potential utilization as a tumor biomarker. DNA methylation markers are actively investigated for their potential uses as tumor biomarkers for diagnosis of tumors in body fluids, prognostication of cancer patients, or prediction of chemotherapeutic drug response. In this review, these aspects will be discussed in detail.

Key Words: Cancer, CpG island, DNA methylation, Tumor biomarker

프로모터 CpG island 과메틸화(hypermethylation)에 의한 유전자 발현억압은 히스톤 변경(modification)과 더불어 후성유전적 변화(epigenetic change)의 대표적인 기전인데, 이러한 후성유전적 변화는 암종의 발생에서 매우 중요한 기전일 뿐만 아니라, 인체의 개체 발생과정에 일어나는 세포분화

및 조직 분화의 핵심적인 기전으로 후성유전적 변화 없이는 개체발생은 없다. 인체 암종의 발암과정에 관련된 유전자에 대한 연구는 주로 DNA 시퀀스 변동에 초점을 두었으나, 메틸 싸이토신을 분석해 낼 수 있는 바이설파이트 변경법이 개발되면서, CpG island 과메틸화라는 후성유전적 기전에 대한 연구가 최근 10여 년간 기하급수적으로 증가하였다. 최근에는 대량분석을 할 수 있는 어레이방법이 도입되면서 유전체 전반적인 후성유전적 연구가 가능하게 되었다. 본고에서는 후성유전학의 개념, 암세포에서 일어나는 DNA 메틸화의 변화, 프로모터 CpG island 과메틸화에 의한 유전자 발현억압 기전, DNA 메틸화가 바이오마커로서 주목을 받은 이유 등에 대해 다루려고 한

접 수: 2009년 5월 13일

수정본접수: 2009년 6월 20일

게재일: 2009년 6월 30일

책임저자: 강경훈

우110-799 서울시 종로구 연건동 28

서울대학교 의과대학 병리학교실

Tel: 02)740-8263, Fax: 02)743-5530

E-mail: ghkang@snu.ac.kr

다.

후성유전적 변화의 정의(Definition of epigenetic change)

인체의 암세포에서 일어나는 유전자의 변화는 종양유전자의 활성화와 종양억제유전자의 비활성화로 요약된다. 종양유전자의 활성화에는 유전자 증폭(gene amplification), 점돌연변이(point mutation), 염색체 전좌(chromatin translocation) 등이 관여하며, 종양억제유전자의 불활성화에는 유전자 변이, 유전자 상실(gene deletion), 그리고 프로모터 CpG island 과메틸화가 관여한다. 여기서 유전자증폭, 점돌연변이, 염색체 전좌, 유전자상실 등은 DNA 시퀀스의 변동을 수반하는 유전적 변화(genetic change)인 반면, CpG island 과메틸화는 DNA 시퀀스의 변동 없이 유전자의 활성을 억압할 수 있다는 점에서 유전적 변화와 구별하여 후성유전적 변화(epigenetic change)라고 부른다. 유전적 변화는 유전자의 구조변화를 가져오지만, 후성유전적 변화는 유전자의 구조변화가 아닌 유전자의 활성도의 변화를 초래한다. 후성유전적 변화의 정의는 어떤 형질의 변화가 DNA 시퀀스의 변동에 의한 것이 아니면서, 이런 형질의 변화가 자손세포에게 전달될 때를 이를 후성유전적 변화라고 일컫는다. 후성유전적 변화에는 CpG island 과메틸화, 히스톤 변경, 크로마틴 구조의 변경 등이 포함되며, 최근에는 small RNA 후성유전학적 기전에 포함시키고 있다¹⁻³⁾.

암세포에서 일어나는 DNA 메틸화의 변화(DNA methylation changes occurring in cancer cells)

아데닌, 구아닌, 싸이토신, 싸이민과 더불어 메틸 싸이토신은 5번째 염기로 분류될 정도로 인체 유전체 DNA의 1%를 차지하며, 싸이토신의 4% 가량을 차지한다. 메틸 싸이토신은 CpG 다이뉴클레오타이드에서만 관찰되며 인체 암종세포에서 관찰되는 DNA 메틸화의 변화란 이러한 메틸 CpG와 비메틸 CpG의 재배열이라고 할 수 있다. 인간 유전체의 CpG 다이뉴클레오타이드의 분포를 보면 CpG island loci를 제외한 나머지 대부분의 시퀀스에서는 CpG의 밀도가 현저히 낮은 CpG 억압(CpG suppression)의 현상을 보이는 반면, CpG island에서는 다른 곳에 비해 월등히 높은 CpG 밀도를 보인다. 따라서, 인간유전체의 CpG 다이뉴클레오타이드는 고르지 못한 분포(uneven distribution)를 하고 있다. 두 번째의 특징은 차별적인 DNA 메틸화(differential DNA methylation)를 보인다

는 것이다. 정상세포에서 유전자 프로모터 및 5' 엑손에 위치한 CpG island loci는 DNA 메틸화를 견지 않도록 보호받아, 대부분에서 메틸화가 없는 반면, 인간 유전체 DNA의 반 가량을 차지하는 반복 시퀀스(예, LINE-1, ALU)에 위치한 CpG 들의 대부분은 과메틸화되어 있다. 그러나 암세포가 되면 이런 메틸화 상황은 역전되어, 메틸화로부터 보호받던 프로모터 CpG island는 과메틸화되는 경향이 있는 반면, 메틸화되어 있던 반복시퀀스의 CpG 부위들은 탈메틸화되어 유전체 전반적인 저메틸화를 초래한다. 즉, 암세포의 DNA 메틸화 변화는 한마디로 요약한다면, 국소적인 프로모터 CpG island의 과메틸화와 유전체 전반적인 저메틸화가 특징이다(Fig. 1). 그러나 이들 두 메틸화 변화가 같은 암세포내에서 관찰된다고 하더라도, 이들 두 메틸화 변화는 독립적인 사건으로 이들간에는 어떤 물리적인 연결이 없다. 따라서 유전체의 DNA 저메틸화가 두드러지면, 프로모터 CpG island 과메틸화가 유전체 여기저기서 현저하게 관찰되는 현상은 발견되지 않는다.

DNA 메틸화를 담당하는 효소(Enzymes mediating cytosine methylation)

포유류에서 DNA 메틸화의 타겟이 되는 뉴클레오타이드는 싸이토신이며, CpG 다이뉴클레오타이드의 싸이토신만이 DNA 메틸화의 타겟이 된다. 즉, CpG 다이뉴클레오타이드만이 DNA 메틸화의 타겟이 된다는 것이다. DNA 메틸화를 매개하는 효소는 Dnmt1, Dnmt3a, Dnmt3b이다. 이 중 Dnmt3a와 3b는 신생메틸화(*de novo* methylation)을 담당하는 효소이며, Dnmt1은 보존성 메틸화(maintenance methylation)를 담당하는 효소이다. 메틸기의 공여자는 S-adenosylmethionine (SAM)이며, SAM으로부터 메틸기를 받아 싸이토신의 5번 탄소위치에 메틸화를 일으켜 5-메틸 싸이토신을 만든다. 신생메틸화란 메틸화가 없는 CpG 부위의 싸이토신에 새로이 메틸화를 일으켜 메틸 싸이토신을 만드는 것을 의미한다. DNA 복제 시 새로이 형성된 신생 DNA 가닥 내의 CpG site들은 메틸화되어 있지 않는데, 기존가닥의 CpG 부위에 메틸화가 있다면, 이에 상응하는 신생가닥의 CpG 부위에 메틸화를 일으키는 것을 보존성 메틸화라고 부른다.

DNA Methylation Changes in Cancer Cells Focal hypermethylation and generalized hypomethylation

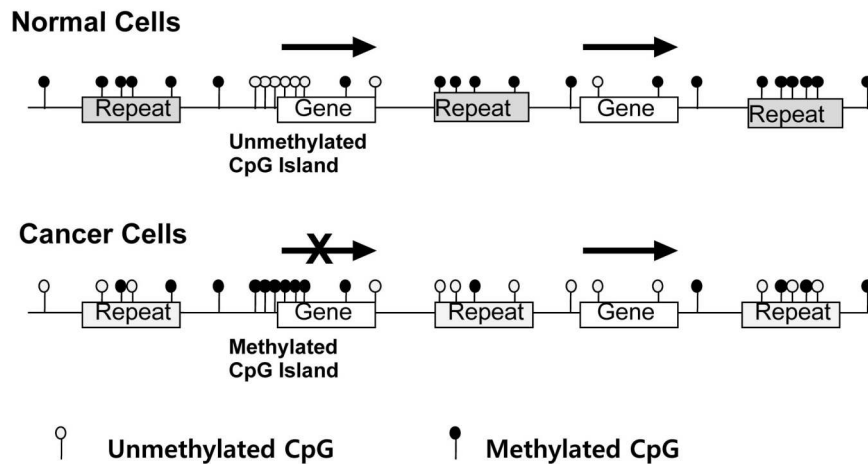


Fig. 1. DNA methylation changes occurring in cancer cells are characterized as focal CpG island hypermethylation and generalized genomic hypomethylation. In normal cells, CpG sites on promoter CpG island loci are protected from aberrant methylation and those on repetitive DNA elements are usually hypermethylated. However, in association with cancerization, CpG sites on promoter CpG island loci tend to be hypermethylated and those on repetitive DNA elements tend to be demethylated.

프로모터 CpG island 과메틸화와 유전체 저메틸화의 기능적 의미(Functional implications of promoter CpG island hypermethylation and diffuse genomic hypomethylation)

CpG island란 CpG 디뉴클레오타이드의 밀도가 높은 시퀀스를 일컫는 것으로 Gardiner-Garden과 Frommer⁴⁾가 제시한 정의에 따르면, 크기는 최소한 200 bp보다 커야 하며, 구아닌과 싸이토신이 전체 뉴클레오타이드의 50%보다 많으며, 기대한 CpG 디뉴클레오타이드에 비해 실제 관찰된 CpG 디뉴클레오타이드의 수가 60% 이상일 때, CpG island라고 정의할 수 있다. 보다 더 간단한 정의는 200bp 내에 7개 이상의 CpG 디뉴클레오타이드가 관찰될 때 CpG island라고 할 수 있다. 그러나 이러한 정의는 반복 시퀀스 내의 CpG 디뉴클레오타이드가 많은 부위들이 CpG island로 규정될 위험이 있어, Takai와 Jones⁵⁾는 크기를 500 bp 이상으로, 구아닌과 싸이토신의 비율이 55% 이상이고, 예측되는 CpG 디뉴클레오타이드의 수에 비해 실제 관찰된 CpG 디뉴클레오타이드의 수가 65% 이상일 때로 정의하였다. 이 새로운 정의로 조사해 보면, 인간 유전자의 50-60%가 프로모터에 CpG island를 가지는 것으로 드러났다⁶⁾. 프로모터 CpG island의 과메틸화가 어떻게 유전자 전사를 억압하는가에 대한 대답은 CpG 디뉴클레오타이드의 메

틸화 그 자체에 의한 효과보다는 메틸화된 CpG 디뉴클레오타이드를 인지하는 결합단백질(예를 든다면, MeCP2)이 와서 붙고, 이 단백질은 Sin3A와 히스톤 탈아세틸화효소를 동원한다. 히스톤 탈아세틸화 효소에 의해 메틸화된 CpG island를 감고 있는 뉴클레솜의 히스톤 옥타머 꼬리가 탈아세틸화되면, 히스톤 메틸화가 조장되고, 결과적으로 뉴클레솜과 DNA 가닥 간의 화학적 결합력이 강해져 크로마틴의 구조가 폐쇄적인 구조로 변하게 된다. 따라서 더 이상 프로모터에 전사인자가 와서 붙을 수 없는 구조로 변화되기 때문에 유전자의 전사가 일어날 수 없게 된다⁷⁾. 여기서의 설명은 프로모터 CpG island의 DNA 메틸화가 우선적으로 일어나고 이어서 히스톤의 변경이 일어나 크로마틴의 구조적 변화가 초래되는 모델을 제시하였지만, 히스톤의 변경 및 크로마틴의 구조 변화가 우선하고 DNA 메틸화 변화가 속발될 수도 있으므로, DNA 메틸화 변화와 히스톤의 화학적 변경은 닭과 달걀처럼 어느 것이 우선하는 변화라고 말할 수 없다. 이 둘의 관계는 직선적인 관계라기보다는 순환관계라고 이해하는 것이 좋겠다¹⁾. 그러나 인체의 발생단계, X염색체의 불활성화 과정과 in vitro 실험 모델 등에서 보면, 히스톤의 탈아세틸화, 메틸화 등의 변화가 우선하고 DNA 메틸화가 속발될 것이라고 추정한다.

유전체 전반적인 저메틸화(diffuse genomic hypomethy-

lation)는 다음과 같은 결과를 초래할 수 있다. 첫째는 종양유전자(proto-oncogene)의 활성화이며, 둘째는 염색체 불안정성의 초래이고, 셋째는 트랜스포존의 활성화에 의한 코딩 유전자 변이나 발현의 변화 등이고, 마지막으로 각인 유전자의 발현 조절의 중요한 기전인 CpG island 과메틸화이다. 만약 유전체 전반적인 저메틸화과정이 각인 유전자의 과메틸화를 탈메틸화시키게 된다면, 각인된 유전자가 양쪽 대립유전자에서 발현됨으로 인해, *IGF2*와 같은 종양유전자인 경우, 세포성장에 가속이 걸리게 된다. 유전체 전반적인 저메틸화에 의해 염색체 불안정성이 초래될 수 있다는 것은 Karpf 등⁸⁾에 의한 실험에서 보기 좋게 제시된 바 있다.

암세포에서 프로모터 CpG island 과메틸화에 의한 유전자 발현의 억제와 유전자 변이 중 어느 것이 더 흔한 변화인가? (Which one is more frequent between CpG island hypermethylation-induced suppression of gene expression and gene mutations?)

인체의 유전자가 26,000개라고 가정한다면, 인체유전자의 70% 가량이 프로모터에 CpG island를 갖고 있는 것으로 추정하고 있으므로⁹⁾, 대략 18,000개의 유전자가 프로모터에 CpG island를 가지고 있으며, 이들이 DNA 과메틸화에 의한 발현 억압을 받을 잠재적 가능성이 있다. 그러나 현재 DNA 메틸화가 확인된 유전자는 훨씬 적다. 프로모터 CpG island loci 중 몇 퍼센트가 인체 정상 또는 종양세포에서 DNA 메틸화를 겪는지 현재까지 알려진 바가 없다. 또한 인체의 종양에서 평균 몇 개의 프로모터 CpG island loci가 DNA 메틸화를 겪는지 정확하게 밝혀진 바는 없다. 그러나 최근에 Baylin 실험실에서 발표된 자료에 따르면, 인체 대장암의 경우, 프로모터 CpG island 과메틸화에 의해 발현이 억압되어 있는 유전자는 약 400개일 것으로 추정하고 있으며, 이 숫자는 대장암에서 변이되어 있는 유전자의 수(평균 90개)에 비해 4배 가량 더 많다^{10, 11)}. 즉, 이런 실험결과는 대장암에서 유전자 변이보다는 후성유전적 기전에 의한 유전자 발현억제 기전이 더 흔한 사건이라는 것을 의미한다. 후성유전적 기전에는 CpG island 과메틸화 외에 히스톤 변경, 크로마틴 구조의 변화, 그리고 microRNA 등이 포함되어 있다는 것을 상기한다면, 후성유전적 기전이 암세포에서 유전자 발현을 변화시키는 데는 유전자변이보다는 훨씬 더 많이 작용할 것임을 알 수 있다.

다단계 암화과정에서 DNA 메틸화 변화의 시점 (Chronological order of DNA methylation changes in multistep carcinogenesis)

어떤 특정 유전자 프로모터의 CpG island 과메틸화가 암 특이적 메틸화라면, 정상세포에서는 메틸화되지 않고 암세포에서만 과메틸화될 것이다. 이러한 메틸화에 의한 유전자 억압이 암세포의 발생에 중요한 역할을 한다면, 암세포의 전단계 병변인 상피내 종양단계에서 이러한 특정 유전자의 프로모터 CpG island 과메틸화가 일어날 것이라고 예상할 수 있다. 즉, 상피내 종양의 발생이나 상피내 종양의 암변환에 CpG island 과메틸화에 의한 유전자 발현억압이 중요한 역할을 할 가능성이 높다. 인체 주요장기의 암종과 그 전암성 병변 및 주변 정상장기 조직을 대상으로 다수의 유전자 프로모터 CpG island loci에 대해 그 과메틸화를 분석해 보면, 정상조직에 비해 암 조직에서 유의하게 높은 빈도로 과메틸화되는 CpG island loci들(즉, 암 특이 메틸화를 보이는 CpG island loci)의 상당부분이 전암성 병변 단계에서 과메틸화를 보인다. 비록 전암성 병변에서 각 유전자의 메틸화 빈도는 대부분의 경우 암 조직에 비해서는 낮은 경향이 있지만, 정상조직에 비해서는 현저히 높거나 높은 경향을 보인다. 유전자의 종류에 따라서는, 전암성 단계에서 충분히 과메틸화가 일어나 암 단계에서 그 빈도가 더 상승하지 않는 경우도 있다. 반면, 전암성 단계에서는 거의 메틸화가 일어나지 않다가 암 종의 단계에서만 과메틸화가 일어나는 유전자도 있다. 암 특이적 메틸화를 보이던 유전자들이 전암성 병변에서도 과메틸화되어 있음을 볼 수 있었던 장기는 자궁경부¹²⁾, 난소¹³⁾, 간¹⁴⁾, 담도, 전립선¹⁵⁾, 대장¹⁶⁾ 등이다. 프로모터 CpG island 과메틸화뿐만 아니라 반복 DNA 시퀀스의 저메틸화(hypomethylation) 또한 전암성 병변에서 관찰된다. *LINE-1*, *ALU*, *SAT2* 등의 저메틸화에 대해 계량적인 방법으로 분석해 보면, 이들 반복 시퀀스의 저메틸화는 암뿐만 아니라 그 전단계 병변에서도 일어남을 볼 수 있다^{15, 17, 18)}. 암세포의 특징적인 DNA 메틸화 변화인 프로모터 CpG island 과메틸화와 유전체 전반적인 저메틸화는 암뿐만 아니라, 그 전단계 병변에서도 일어난다.

무엇이 유전자 프로모터 CpG island loci의 과메틸화를 초래하는 것인가? (What causes hypermethylation of promoter CpG island loci?)

현재 유전자 프로모터 CpG island에 메틸화가 일어나는 기

전에 대해 분명하게 밝혀진 것은 없다. 단지, 현재까지 알려진 단편적인 사실들로부터, 프로모터 CpG island의 메틸화를 일으키는 촉진인과 이를 일어나지 않도록 보호하는 방어인자들로 나누어 어떠한 상황에서 프로모터 CpG island가 메틸화되는 지 유추해 볼 수 있겠다. 만성염증이 초래되는 상황에서 DNA 메틸화가 조장된다는 것이 알려져 있다. *H. pylori* 감염¹⁹⁾, AIDS 바이러스 감염²⁰⁾, 특발성 염증성 장질환²¹⁾, 바이러스 감염²²⁾ 등과 같은 상황에서 유전자 프로모터 CpG island loci의 과메틸화를 볼 수 있는데, 이런 염증성 질환에는 Dnmt1의 과발현이 동반되어 있다. EBV 감염이 있는 위암은 EBV 감염이 없는 위암에 비해 프로모터 CpG island loci의 과메틸화가 현저하게 많이 일어나 있는 것을 관찰할 수 있다²³⁾. 또한 악성종괴종에서도 SV40의 감염이 있는 경우, 프로모터 CpG island loci의 과메틸화가 현저히 많이 일어나는 것 또한 보고되어 있다²⁴⁾. 실험적으로 Dnmt1을 과발현시키면, 세포주의 유전체 전반에서 CpG island loci의 과메틸화를 볼 수 있다. 실험적으로 Dnmt1이 과발현된 상황에서도 메틸화가 되지 않는 CpG island loci가 있는 반면 과메틸화가 쉽게 일어나는 CpG island loci가 있다. 이는 CpG island loci의 어떤 내재적 특성에 의해 이런 차별성을 초래한다고 생각할 수 있는데, 특정 DNA 시퀀스 모티프를 가진 경우 DNA 과메틸화에 잘 걸린다는 연구결과들이 발표된 바 있으며, 어떤 특정 DNA 시퀀스 모티프는 DNA 메틸화에 저항하는 것으로 알려져 있다²⁵⁾. 또한, 히스톤 H3의 라이신 27번(H3K27)에 삼중메틸화가 있는 유전자 프로모터 CpG island의 경우, 없는 CpG island에 비해 DNA 메틸화에 잘 전환된다. 반면, H3K4의 메틸화가 있으면서, 활발하게 전사되고 있는 유전자에 위치한 CpG island는 DNA 메틸화를 잘 견디지 않는다²⁶⁾. 즉, 하우스 키팅 유전자에 비해 조직 특이 유전자에 위치한 CpG island loci가 DNA 메틸화를 견디는 위험도가 높다.

종양표지자로서의 DNA 메틸화(DNA methylation marker as a tumor biomarker)

CpG island 과메틸화는 종양억제유전자 또는 종양관련유전자의 발현억압기전으로서의 중요성뿐만 아니라 종양표지자로서의 중요성이 부각되고 있다²⁷⁾. DNA 메틸화 마커가 종양표지자로서의 주목을 받는 이유는 다음과 같은 것들을 들 수 있다. 첫째, 싸이토신의 메틸화는 공유결합이기 때문에 화학적으로 매우 안정된 변화이다. 따라서, 단백질이나 RNA에 비

해 메틸 싸이토신은 훨씬 안정적인 화합물이기 때문에, 검체의 보관상태에 영향을 상대적으로 덜 받는다. 병원에서 가장 많이 보관하고 있는 인체 질환 표본은 병리과에서 보관하고 있는 포르말린고정-파라핀포매 병리조직이고, 또한 유리조직 슬라이드일 것이다. 여기에서 추출한 DNA와 신선표본 DNA를 비교해서 DNA 메틸화 분석을 해 보면, DNA 메틸화 검출율에서 별 차이가 없는 것을 볼 수 있다. 둘째, DNA 메틸화 변화는 인체의 거의 모든 암에서 보편적으로 관찰되는 현상이며, 셋째, 암 발생의 초기단계에서 일어나는 변화이다. 넷째, 상술한 바와 같이 인체의 각 장기 암은 고유한 메틸화 프로필을 갖는 경향이 있기 때문에 다수의 DNA 메틸화 마커에 대한 분석을 통해, 각 조직의 암을 구별할 수 있다. 다섯째, 이러한 메틸화 변화는 검사하기도 쉽기 때문에, DNA 메틸화 변화는 종양표지자로서 관심을 끌고 있다. DNA 메틸화 마커는 종양의 검출에 활용될 수 있는데, 종양세포가 있거나 종양세포에서 유리된 DNA가 있다면 DNA 메틸화를 검출할 수 있기 때문에, 혈액, 객담, 소변, 대변, 유즙, 담즙 등에서 종양의 유무를 검출하는데 활용할 수 있다. 특히 혈액의 경우, 인체의 거의 모든 장기의 암종이 혈액에서 DNA 메틸화 마커 검사를 통해 검출이 가능하다. 다만, 종양 내에 혈관이 잘 발달되어 있어, 종양세포나 종양세포에서 유래한 DNA가 혈액 내로 잘 나올 수 있는 간세포암이나 콩팥암 등에서 DNA 메틸화 마커는 종양의 검출에 유용하게 활용될 여지가 크다. *SEPT9* 유전자 메틸화는 혈액에서 대장암을 초기단계에서 진단하는데 유용한 바이오마커로 활용할 수 있음이 발표되었고, 현재 이를 상품화하는 작업이 진행되고 있다.

메틸화분석방법(Methods of DNA methylation analysis)

DNA 메틸화를 분석하는 방법은 분석하는 기법에 따라 다음과 같이 나눌 수 있다. Bisulfite modification 방법은 메틸화가 없는 싸이토신을 우라실로 변경시키는 반면, 메틸화된 싸이토신은 싸이토신의 상태로 유지하는 방법이다. 바이설파이트를 이용하지 않고, CpG 부위를 인지하면서 메틸화가 없을 때는 자를 수 있지만, 메틸화가 있을 때는 자를 수 없는 제한효소와 이러한 메틸화에 둔감한 isoschizomer를 이용하는 제한효소분석방법으로 나눌 수 있다. 또는 특정유전자의 메틸화를 분석하려는 후보유전자 접근법(candidate gene approach)과 유전체 전체에 걸쳐 DNA 메틸화를 분석하는 유전체레벨

Table 1. Methods of DNA Methylation Analysis

Candidate gene approach	Genome-wide methylation analysis	Extensive candidate gene approach
Pyrosequencing	Infinium methylation solution	Goldengate methylation solution
MethylLight	MeDIP on chip	MethylProfiler
MSP	MIRA on chip	
	MeDIP-Solexa	
	MIRA-Solexa	
	MCA	
	MS-RDA	
	DMH	

Abbreviations : MeDIP, methyl-DNA immunoprecipitation; MIRA, methylated-CpG island recovery assay; MSP, methylation specific PCR; MCA, methylated CpG island amplification; MS-RDA, methylation-sensitive representational difference analysis; DMH, differential methylation hybridization

의 접근법 (genomewide approach) 법이 있고, 후보유전자 접근법이지만 분석하는 유전자의 규모가 큰 방법 등이 있을 수 있다. 이 후자에 속하는 방법은 Illumina회사가 개발한 Goldengate methylation solution, Infinium methylation assay 방법인데, 각각 807개 유전자 및 14k 유전자의 메틸화를 분석한다(Table 1).

결 언(Conclusion)

프로모터 CpG island 과메틸화와 유전체 저메틸화로 대변되는 암세포의 DNA 메틸화 변화는 어떤 특정 조직의 암세포에서만 관찰되는 것이 아니라, 인체의 거의 모든 유형의 암종에서 관찰되는 보편적인 현상이다. DNA 메틸화 변화는 종양세포에서만 일어나는 병적인 현상이 아니라, 발생과정의 중요한 생명현상으로 이러한 변화 없이는 개체의 발생이 일어나지 않는다. 프로모터 CpG island 과메틸화는 유전자 발현을 억압하는 기전으로서뿐만 아니라, 암을 진단하는 바이오마커로서 관심을 끌고 있고, 이를 활용한 암 진단방법이 개발되고 있다. 프로모터 CpG island 과메틸화에 의한 종양유전자의 발현억제는 가역적인 과정이기 때문에, 과메틸화를 없앴으로써 종양 유전자의 발현을 유도할 수 있어, 이런 후성유전학적 치료제의 개발이 활발히 연구되고 있다.

국문초록

프로모터 CpG island 과메틸화와 히스톤 변경으로 대변되는 후성유전적 변화는 거의 모든 종류의 암에서 발견되는 중요한 발암기전이다. 인간유전자의 60-70% 가량이 프로모터에 CpG islands를 가지고 있으며, 이 유전자들 중 일부가 과메틸

화됨으로써 해당유전자의 발현이 차단되고, 종양억제기능이 소실되어 종양세포의 성장을 촉진하게 된다. 암에는 프로모터 CpG island 과메틸화라는 국소적 변화 이외에, 유전체 전반에 걸친 탈메틸화를 동시에 보이는 경우가 대부분인데, 이러한 유전체 저메틸화는 염색체 불안정성과 밀접한 연관이 있다. 국소적 과메틸화와 전반적인 저메틸화라는 이러한 상반된 DNA 메틸화 변화는 암세포뿐만 아니라 그 전단계 병변인 이형성 병변에서도 관찰된다. 프로모터 CpG island 과메틸화는 유전자 발현억제 기전으로서의 중요성뿐만 아니라 종양표지자로서의 중요성이 부각되고 있다. 즉, 정상세포에서는 관찰되지 않으면서 암세포에서만 관찰되는 프로모터 CpG island 과메틸화는 암세포의 바이오마커로서의 가치가 있으며, 이를 이용하여 체액에서 암을 진단하려는 시도들이 이루어지고, 이를 활용한 암의 분자진단방법이 개발되고 있다. 또한 이러한 DNA 메틸화는 암환자의 예후 판정이나 항암치료제의 감수성 결정 등에 활용되고 있다. 본 원고에서는 인체 암세포에서의 DNA 메틸화 변화에 관하여 소개하고자 한다.

참고문헌

- 1) Laird PW. Cancer epigenetics. *Hum Mol Genet* 2005; 14 Spec No 1:R65-76.
- 2) Ehrlich M. DNA methylation in cancer: too much, but also too little. *Oncogene* 2002;21:5400-13.
- 3) Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med* 2008; 358:1148-59.
- 4) Gardiner-Garden M, Frommer M. CpG islands in vertebrate genomes. *J Mol Biol* 1987;196:261-82.
- 5) Takai D, Jones PA. The CpG island searcher: a new WWW resource. *In Silico Biol* 2003;3:235-40.
- 6) Wang Y, Leung FC. An evaluation of new criteria for

- CpG islands in the human genome as gene markers. *Bioinformatics* 2004;20:1170–7.
- 7) Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999;21:163–7.
 - 8) Karpf AR, Matsui S. Genetic disruption of cytosine DNA methyltransferase enzymes induces chromosomal instability in human cancer cells. *Cancer Res* 2005;65:8635–9.
 - 9) Saxonov S, Berg P, Brutlag DL. A genome-wide analysis of CpG dinucleotides in the human genome distinguishes two distinct classes of promoters. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:1412–7.
 - 10) Wood LD, Parsons DW, Jones S, Lin J, Sjöblom T, Leary RJ, et al. The genomic landscapes of human breast and colorectal cancers. *Science* 2007;318:1108–13.
 - 11) Schuebel KE, Chen W, Cope L, Gluckner SC, Suzuki H, Yi JM, et al. Comparing the DNA hypermethylome with gene mutations in human colorectal cancer. *PLoS Genet* 2007;3:1709–23.
 - 12) Widschwendter A, Gatringer C, Ivarsson L, Fiegl H, Schneitter A, Ramoni A, et al. Analysis of aberrant DNA methylation and human papillomavirus DNA in cervicovaginal specimens to detect invasive cervical cancer and its precursors. *Clin Cancer Res* 2004;10:3396–400.
 - 13) Ehrlich M, Woods CB, Yu MC, Dubeau L, Yang F, Campan M, et al. Quantitative analysis of associations between DNA hypermethylation, hypomethylation, and DNMT RNA levels in ovarian tumors. *Oncogene* 2006;25:2636–45.
 - 14) Lee S, Lee HJ, Kim JH, Lee HS, Jang JJ, Kang GH. Aberrant CpG island hypermethylation along multi-step hepatocarcinogenesis. *Am J Pathol* 2003;163:1371–8.
 - 15) Cho NY, Kim JH, Moon KC, Kang GH. Genomic hypomethylation and CpG island hypermethylation in prostatic intraepithelial neoplasm. *Virchows Arch* 2009;454:17–23.
 - 16) Lee S, Hwang KS, Lee HJ, Kim JS, Kang GH. Aberrant CpG island hypermethylation of multiple genes in colorectal neoplasia. *Lab Invest* 2004;84:884–93.
 - 17) Lee HS, Kim BH, Cho NY, Yoo EJ, Choi M, Shin SH, et al. Prognostic implications of and relationship between CpG island hypermethylation and repetitive DNA hypomethylation in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2009;15:812–20.
 - 18) Yoo EJ, Park SY, Cho NY, Kim N, Lee HS, Kang GH. Helicobacter pylori-infection-associated CpG island hypermethylation in the stomach and its possible association with polycomb repressive marks. *Virchows Arch* 2008;452:515–24.
 - 19) Chan AO, Lam SK, Wong BC, Wong WM, Yuen MF, Yeung YH, et al. Promoter methylation of E-cadherin gene in gastric mucosa associated with Helicobacter pylori infection and in gastric cancer. *Gut* 2003;52:502–6.
 - 20) Giordanengo V, Ollier L, Lanteri M, Lesimple J, March D, Thyss S, et al. Epigenetic reprogramming of UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase (GNE) in HIV-1-infected CEM T cells. *FASEB J* 2004;18:1961–3.
 - 21) Chan AO, Rashid A. CpG island methylation in precursors of gastrointestinal malignancies. *Curr Mol Med* 2006;6:401–8.
 - 22) Shen L, Ahuja N, Shen Y, Habib NA, Toyota M, Rashid A, et al. DNA methylation and environmental exposures in human hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:755–61.
 - 23) Kang GH, Lee S, Kim WH, Lee HW, Kim JC, Rhyu MG, et al. Epstein-barr virus-positive gastric carcinoma demonstrates frequent aberrant methylation of multiple genes and constitutes CpG island methylator phenotype-positive gastric carcinoma. *Am J Pathol* 2002;160:787–94.
 - 24) Toyooka S, Pass HI, Shivapurkar N, Fukuyama Y, Maruyama R, Toyooka KO, et al. Aberrant methylation and simian virus 40 tag sequences in malignant mesothelioma. *Cancer Res* 2001;61:5727–30.
 - 25) Feltus FA, Lee EK, Costello JF, Plass C, Vertino PM. DNA motifs associated with aberrant CpG island methylation. *Genomics* 2006;87:572–9.
 - 26) Schlesinger Y, Straussman R, Keshet I, Farkash S, Hecht M, Zimmerman J, et al. Polycomb-mediated methylation on Lys27 of histone H3 pre-marks genes for de novo methylation in cancer. *Nat Genet* 2007;39:232–6.
 - 27) Laird PW. The power and the promise of DNA methylation markers. *Nat Rev Cancer* 2003;3:253–66.