

Deletion Polymorphism of *UGT2B17* and Its Relation to Lung Cancer

Se-Ra Lee, Myoung Hyun Ahn, So-Young Seol, Ji-Sun Lee, Chung-Nam Chung* and Sun-Hee Leem*

Department of Biological Science, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

Received January 20, 2010 / Accepted March 16, 2010

Glucuronidation is a major pathway for NNAL [4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol] and *UGT2B17* (UGT, uridine diphospho-glucuronosyltransferase) is from the UGT2B family that glucuronidates carcinogens. *UGT2B17* deletion was associated with decreased levels of NNAL and with increased risk of some cancers. The *UGT2B17* gene varies in copy number from zero to two per individual in humans. To examine whether *UGT2B17* gene deletion is associated with the risk of lung cancer, we investigated copy number variants (CNV) in 271 cancer-free controls and 176 cases of lung cancer in Koreans by a PCR-based method. The frequency of the *UGT2B17* deleted alleles was much higher than in other Caucasian and African-American groups which have already been reported. While only up to 10% of Caucasians have zero copies of the gene, up to 74% of Koreans in this study showed that both copies of the gene were deleted. Furthermore, the overall frequency of this dual deletion in female groups was higher than in male groups. However, there was no association between CNV in *UGT2B17* and lung cancer. This result suggested that the *UGT2B17* deletion allele was not associated with the susceptibility of lung cancers in the Korean group. However, this *UGT2B17* CNV polymorphism may be a useful marker for evolutionary analysis among races.

Key words : UGTs, deletion polymorphism, CNV, breakpoint, evolution marker

서 론

폐암은 높은 암 사망 원인질환의 하나로 전 세계적으로 남녀 모두에서 그 발생률이 빠른 속도로 증가하고 있다. 전체 폐암의 약 80%는 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer)으로 수술을 통해 절제가 가능한 경우를 제외하고 대체적으로 예후가 매우 나쁜 것으로 알려져 있다[12]. 현재까지 많은 연구에도 불구하고 폐암 환자의 치료에 대한 반응 여부나 생존 기간에 대한 독립적인 예후 인자는 아직 정확히 알려져 있지 않다. 최근의 연구에서 종양유전자(oncogene) 중 하나인 epidermal growth factor receptor (EGFR)의 과발현이 환자의 생존기간과 연관이 있다고 보고되고 있다[10]. 또한 HER-2의 과발현은 역시 폐암의 발생 및 예후와 관계가 있을 것으로 보고되고 있지만 아직 연구가 미미한 상태이다[19]. 폐암의 가장 큰 원인물질로 알려져 있는 흡연은 모든 암에서도 그 연관성이 알려져 있으며, 최근 흡연하지 않은 사람에게서 발생하는 폐암에 대한 연구로 오랫동안 담배연기에 노출된 간접 흡연자에서도 그 폐암 사망률이 높다고 보고되고 있다[13].

이러한 담배연기 등의 유독물질은 인체 내에 들어가게 되면 많은 부분은 특정 유전물질에 의해 해독과정을 거치게 된다. 이렇게 인체 내에는 여러 독성·화학물질들을 해독하는 많은 생화학적 과정이 관여하며, 이러한 과정의 하나인 glucur-

onidation에 관여하는 UDP glycosyltransferase (UGTs) 유전자들은 유해물질을 외부로 배출시키는 역할을 촉매하는 역할을 수행한다. 이들 효소들은 독성물질을 친수성으로 전환시킨 후 glucuronic acid를 결합시킴으로써 소변이나 담즙으로 배출하게 만든다[20,22,26]. UGTs를 암호화하는 유전자들은 현재까지 모두 4개의 subfamily (UGT1, UGT2, UGT3, UGT8)로 나누어져 있으며[8,20], UGT1과 UGT2는 각각 2개의 하위그룹(UGT1A, UGT1B/UGT2A, UGT2B)으로 다시 분류된다[15,16,20]. 이 중 UGT2B family 유전자들은 인간의 4번 염색체 q13에 밀집하여 *UGT2B17*, *UGT2B16*, *UGT2B10*, *UGT2B7*, *UGT2B11*, *UGT2B28*, *UGT2B4*로의 순서로 cluster를 이루고 있다[21].

이 중 본 연구에서 초점을 맞춘 *UGT2B17* 유전자는 담배의 니코틴으로부터 형성되는 발암물질인 tobacco-specific nitrosamine과 관련되어 있다고 보고되었다[4,7,9]. Tobacco-specific nitrosamine 중에서 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)와 N'-nitrososornicotine (NNN)은 가장 강력한 발암전구물질로 알려져 있으며, NNK와 NNK의 대사산물인 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL)이 폐암, 췌장암, 구강암, 식도암 등의 여러 암과 연관되어 있는 것으로 보고되고 있다[6,7,18]. 또한 대부분의 조직에서 NNK는 탄소환원과정을 통하여 NNAL로 전환되며, UGTs에 의해 glucuronidation 되어 해독과정을 거친다[1,5,14,26]. 이러한 *UGT2B17* 유전자는 인간 genome 상에서 ins/del에 의한 CNV (copy number variation)을 나타내는 특성을 가지고 있

*To whom correspondence should be addressed

Tel : +82-51-200-7268, Fax : +82-51-200-7269

E-mail : shleem@dau.ac.kr, cnchung@dau.ac.kr

고, 진화의 단계에서 흔히 사라지는 유전자 중 하나로 이러한 유전자의 결실은 염색체 내에 존재하는 특정 breakpoint에 위치에서 일어난다[17,22,24]. 이러한 Breakpoint 영역은 염색체 4번의 q13에 존재하고 *UGT2B17* 유전자 전체를 포함하고 있어, breakpoint의 결실이 일어날 경우 염색체 상의 *UGT2B17* 유전자 전체 영역이 결실되는 것으로 알려져 있다[22,24].

따라서 본 연구에서는 이러한 결실과 폐암과의 관련성을 조사하기 위하여 암과 관련 없는 대조군과 폐암 환자의 혈액으로부터 genomic DNA를 사용하여 *UGT2B17* 유전자의 삽입/결실 빈도의 차이를 비교하였다. 또한 기존에 보고된 다른 민족과의 빈도를 비교하여 이러한 삽입/결실 빈도의 차이가 진화의 민족적 마커로 사용될 수 있는지 비교하였다.

재료 및 방법

*UGT2B17*의 구조분석: 생물정보학(Bio-informatics)

NCBI web site (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)를 통해 *UGT2B17* 유전자의 위치와 서열, exon 및 intron 영역을 확인하였다. 또한 이미 등재되어 있는 BAC RP11-185H6, BAC RP11-597F18 clone 서열을 이용하여 BLAST program (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)으로 breakpoint의 위치와 *UGT2B17*를 포함하는 결실영역을 확인하였다.[22]

Genomic DNA

암과 관련이 없는 대조군의 샘플로 남성 128명과 여성 143명의 혈액으로부터 genomic DNA를 추출하였고, 폐암 환자의 샘플로서 남성 150명, 여성 26명의 폐암조직에서 추출한 genomic DNA를 사용하였다(Table 1). 혈액은 lysis buffer (1.28 M Sucrose; 40 mM Tris, pH 7.5; 20 mM MgCl₂; 4% Triton X-100)와 멸균수를 1:1.3 비율로 넣고 얼음 위에서 방치한 뒤 4°C에서 1,500 rpm으로 15분 동안 원심분리하고 상층액을 제거한다. Lysis buffer와 멸균수를 넣은 후, 4°C에서 3,000 rpm으로 3분 동안 원심분리 한다. 다시 상층액을 제거 한 후 general lysis buffer (800 mM Guanidine HCl; 30 mM Tris-Cl,

pH 8.0; 30 mM EDTA, pH 8.0; 5% Tween-20; 0.5% Triton X-100)를 넣고 Protease K (20 mg/ml)를 넣은 후 50°C에서 30-60분 동안 방치한다. RNase A (10 mg/ml)를 넣고 37°C에서 30분 동안 방치한 후 phenol:chloroform을 넣고 4°C에서 14,000 rpm 으로 7분 동안 원심분리 한다. 상층액만 따로 분리한 후, isopropanol을 넣고 14,000 rpm으로 2분 동안 원심분리 한다. 상층액은 버리고 70% EtOH를 넣고 세척한 후 TE [10 mM Tris-Cl (pH 8.0), 1 mM EDTA (pH 8.0)] 용액을 넣고 녹인 후 사용한다.

폐암조직으로부터 genomic DNA를 추출하기 위해서는 Tissuelyser II (Qiagen, CA) chamber를 차가운 상태로 준비한 뒤 적당량의 general lysis buffer를 넣는다. 그리고 동결상태의 암 조직과 beads를 넣어 분쇄한다(28회/1분, 3회 반복). 이후 과정은 혈액에서 genomic DNA를 추출하는 과정과 동일하게 수행하였다.

PCR (Polymerase chain reaction)

*UGT2B17*의 삽입과 결실(Ins/Del)을 확인하기 위하여 이전 연구에서 확인된 Marker C 와 Marker J 영역을 사용하였다 [22]. 본 실험에 이용된 primer로서 insertion (유전자 삽입)을 확인하기 위한 Exon 1 영역에 존재하는 marker C (Forward 5'-GGAAGAGCTTGTTTCAGA-3' / Reverse 5'-CTGCATCTTCACAGAGCTTT-3', product size; 269 bp) 영역과 deletion (유전자 결실)을 확인하기 위한 breakpoint 영역의 외부에 위치하는 marker J (Forward 5'-TGCACAGAGTTAAGAAATGGAGAGATGTG-3' / Reverse 5'-GATCATCCTATATCC TGACAGAATTCTTTTG-3', product size; 893 bp)를 이용하였다[22].

위의 primer를 사용하여 *UGT2B17* 영역에 대한 PCR 증폭을 수행하기 위하여, template DNA로 위의 방법으로 추출한 genomic DNA 100 ng/μl를 넣고, 4 μl의 10x G Taq buffer (50 mM KCl, 50 mM Tris-HCl, pH 9.0, 20 mM MgCl₂, (NH₄)₂SO₄ Reaction Buffer System과 2.5 mM의 dNTP(dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 각 primer set와 0.5 Unit의 G Taq polymerase (Cosmo Gentech, Korea)를 첨가하여 총 40 μl의 혼합물을 만들었다. PCR 조건은 predenaturation을 94°C에서 4분을 1 cycle 수행 후, denaturation으로 94°C에서 30초, annealing으로 60°C에서 30초, extension으로 72°C에서 1분 동안의 반응을 총 30 cycles로 수행한 후, 다시 post-extension을 72°C에서 7분 동안 수행하였다.

이렇게 증폭시킨 Marker C와 Marker J 영역의 PCR 산물을 동일한 농도가 되도록 한 튜브에 섞어, 1.5% LE agarose gel (TAKARA, JAPAN)에 두 밴드가 동시에 보일 수 있도록 한 well에 넣어 전기영동을 수행하였다. 이 때 크기 비교용 DNA size marker로 100 bp ladder (Axygen, USA)를 사용하였다.

Table 1. Characteristics of samples used in this study

	Level	Controls	Lung cancer
Age	30-39	76 (28.0%)	3 (1.7%)
	40-49	59 (21.8%)	12 (6.8%)
	50-59	68 (25.1%)	39 (22.2%)
	60-69	49 (18.1%)	83 (47.2%)
	70-79	15 (5.5%)	34 (19.3%)
	80-89	4 (1.5%)	5 (2.8%)
	Average	49.3	62.9
Sex	Male	128 (47.2%)	150 (85.2%)
	Female	143 (52.8%)	26 (14.8%)
Total		271	176

통계학적 분석

이형접합성(Heterozygosity)은 다형성 정도를 알아보는 방법으로 값의 범위는 0~1로 나타내며, Chakravarti와 Lynn [3]의 방법으로 다형성 정도를 대조군과 실험군에서 조사하였다. 또한, 특정 유전자형에 대한 질병의 상대적 위험도(Odd Ratios)는 95% 신뢰구간(95% CIs; confidence intervals)안에서 분석하였고, 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 로 산출하였다. 통계학적 분석은 MS Excel을 사용하여 CHITEST과 R statistical software (v2.5.1, www.r-project.org)를 이용하여 chisq.test를 수행하였다[25].

결 과

UGT2B17 결손 영역의 구조분석

염색체 4번에 4q13에 위치한 UGT2B17을 포함한 deletion 영역은 약 117 kb로 동정되고, UGT2B17 유전자는 약 31 Kb의 크기를 가지며 6개의 exon 영역을 포함하고 있다. 4q13 영역은 UGT2B17뿐만 아니라 같은 UGT2B family에 속하는 7 개의 유전자인 UGT2B17, UGT2B16, UGT2B10, UGT2B7, UGT2B11, UGT2B28, UGT2B4로의 순서로 cluster를 이루고 있으며 특히 UGT2B15와 cDNA 서열이 90% 이상 유사하다고 보고되었다

[2][Fig. 1]. 염색체 상에서 UGT2B17를 포함하여 결실되는 염색체 영역을 확인하기 위한 Marker J primer set는 breakpoint 밖에 위치한 염기서열 정보로 합성되었다. 삽입에 대한 확인 primer set인 Marker C는 UGT2B17 exon 1 내에 존재하여 유전자가 존재하면 PCR로 증폭되어 확인할 수 있다[22]. 따라서 Marker C primer set로 증폭되어 밴드가 확인되면 UGT2B17 유전자의 존재를 확인할 수 있고, Marker J primer set으로 확인되는 밴드는 UGT2B17 유전자를 포함하는 결실영역이 사라져야 확인이 가능하므로 UGT2B17 유전자의 결실을 확인 할 수 있다[6,22,23](Fig. 1, Fig. 2A).

대조군과 암 환자에서의 UGT2B17 유전자의 삽입/결실 확인

UGT2B17의 결실과 폐암과의 관련성을 조사하기 위하여, 대조군으로 암과 관련이 없는 건강한 남성 128명과 여성 143명의 혈액으로부터 추출한 genomic DNA를 사용하였다 (Table 1). 총 271명 대조군을 사용하여 PCR을 수행한 결과 UGT2B17의 결실 및 삽입의 두 대립형질을 확인하였다(Fig. 2A). 삽입형(Marker C)에 대립형질을 가진 269 bp 크기의 밴드와 결실형(Marker J)에 대립형질을 가진 893 bp 크기의 밴드가 각각 확인되었고, 삽입/결실(C/J)의 두 개의 대립형질 모두



Fig. 1. Genomic organization surrounding the UGT2B17 in human chromosome 4q13. Seven distinct genes of UGT2B subfamily have been identified in this region [2]: UGT2B17, UGT2B15, UGT2B10, UGT2B7, UGT2B11, UGT2B28 and UGT2B4. The dasher lines included the probes locations of UGT2B17 region for deletion and insertion alleles. Two distinct PCR experiments were designed to amplify the UGT2B17 deletion (Marker C) and insertion (Marker J) polymorphism in Korean samples. The UGT2B17 deletion region is located between -23 kb/-22 kb and +71 kb/+72 kb of the genes which is about 117 kb region by breakpoint.

Haplotypes	Controls	Male	Female	OR** (95% CIs) P value
	N=542 (Frequency)	N=256 (Frequency)	N=286 (Frequency)	
C	78 (14.4%)	43 (16.8%)	35 (12.2%)	1.44 (0.89-2.34) 0.13
J	464 (85.6%)	213 (83.2%)	251 (87.8%)	
Haplotypes	Lung cancer	Male	Female	OR** (95% CIs) P value
	N=352 (Frequency)	N=300 (Frequency)	N=52 (Frequency)	
C	66 (18.8%)	59 (19.7%)	7 (13.5%)	1.57 (0.68-3.67) 0.29
J	286 (81.3%)	241 (80.3%)	45 (86.5%)	
OR* (95% CIs) P value	0.73 (0.51-1.04) 0.08	0.82 (0.53-1.27) 0.38	0.90 (0.38-2.14) 0.81	

*Comparison between controls and lung cancer
**Comparison between male and female of each group

Fig. 2. Polymorphic analysis between controls and cancer cases. (A) PCR amplification of the breakpoint region for ins/ins (C/C), del/del (J/J) and ins/del (C/J). M, 100 bp size marker (Axygen, USA). (B) Analysis of polymorphic alleles and risk of lung cancers.

를 지닌 이형 대립형질의 PCR 산물이 확인되었다. 대조군에서 삽입형 대립형질 C는 0.144(78/542)의 빈도로 나타났고, 결실형 대립형질 J는 0.856(464/542)의 빈도로 확인되었다(Fig. 2B). 대조군을 성별에 따라 다시 분류하여 결실과 삽입 두 대립형질의 빈도를 비교한 결과, 여성그룹에서 삽입 대립형질 빈도가 남성에 비해 낮게 나타났다(남성:여성=16.8%:12.2%). 그러나 이러한 차이는 통계적 유의성을 나타내지는 않았다(p=0.1).

또한 *UGT2B17* 유전자 결실과 폐암과의 관련성을 확인하기 위하여 폐암 남성 환자 150명과 여성 환자 26명의 조직으로부터 얻은 genomic DNA를 사용하여 실험한 결과, 삽입 대립형질 C가 0.188 (66/289)의 빈도로 나타났고 결실 대립형질 J는 0.813 (286/352)의 빈도로 나타났다(Fig. 2B). 폐암그룹에서도 성별에 따라 다시 분류하여 결실과 삽입 두 대립형질의 빈도를 비교한 결과, 폐암 환자군의 여성그룹에서 삽입 대립형질 빈도가 남성에 비해 낮게 나타났다(남성:여성=19.7%:13.5%). 그러나 폐암환자그룹에서도 이러한 차이는 통계적 유의성을 나타내지는 않았다(p=0.29)(Fig. 2B).

다음으로 두 개의 대립형질로 이루어진 유전자형(genotype)의 빈도를 조사하기 위하여, 결실 동형접합(J/J), 결실/삽입

이형접합(C/J) 그리고 삽입 동형접합(C/C)으로 각각 분리하여 나타났다(Table 2). 그 결과, 대조군에서 결실 동형접합(J/J)이 0.742의 빈도로 가장 많이 나타났으며, 결실/삽입 이형접합(C/J)이 0.232이며 삽입동형접합(C/C)이 0.026으로 가장 낮은 빈도로 확인되었다(Table 2). 폐암환자 그룹에서 비교한 결과, 결실 동형접합(J/J)이 0.648의 빈도로 가장 많이 나타났으며, 결실/삽입 이형접합(C/J)이 0.330이며 삽입동형접합(C/C)이 0.023으로 확인되었다(Table 2). 이러한 유전자형을 다시 한 개 이상의 삽입을 가진 C/C와 C/J를 하나의 그룹으로 하고 양쪽 다 결실된 J/J를 나누어 분석한 결과, 한 개 이상의 삽입을 가진 폐암 샘플의 빈도가 0.353으로 대조군의 0.238으로 통계적 유의성을 가지며 높게 나타났다(p=0.03). 즉 양쪽 다 결실을 가질 경우 오히려 폐암 위험도가 0.64(CI 95%, 0.42-0.97)로 낮아짐을 의미한다(Table 2).

그러나 Table 3에서와 같이 이러한 결과를 두 샘플그룹을 다시 성별로 나누어 분석할 경우, 앞선 각 형질별 빈도 조사의 결과에서 보여준 것과 같이 대조군과 폐암그룹에서 각각 여성 그룹이 결실형질 빈도가 높게 나타나는 것을 확인할 수 있다. 그러나 이러한 성별의 차이는 통계적 유의성을 나타내지는 않았다(대조군, p=0.1; 폐암군, p=0.34). 그러므로 유전자형 빈도 조사를 각각 성별로 나누어 대조군 남성과 폐암 남성을 비교하고 대조군 여성과 폐암 여성을 비교한 결과 통계적 유의성은 나타나지 않았다(남성 비교, p=0.28; 여성비교, p=0.56). 그러므로 위의 전체 대조군과 폐암그룹간의 유의성은 두 그룹간의 성별 비율의 차이로 나타나는 것으로 실제 결실과 삽입 형질 빈도가 폐암과는 연관성이 없는 것으로 사료된다.

인종에 따른 *UGT2B17* 유전자의 삽입/결실 빈도의 비교 분석

*UGT2B17*은 유전자를 포함하는 breakpoint에 의한 결실로 인해 *UGT2B17* 유전자 전체가 인간의 염색체 상에서 사라지게 되며 이에 대한 기능 또한 상실하게 된다[14,21,22]. 그러나 이러한 *UGT2B17* 유전자의 삽입/결실의 빈도가 모든 인종에서

Table 2. Genotype frequencies and risk of cancer cases

Genotype	Controls		Lung cancer	
	N=271	Frequency	N=176	Frequency
C/C	7	0.026	4	0.023
C/J	63	0.232	58	0.330
J/J	201	0.742	114	0.648
C/C, C/J	70	0.238	62	0.353
J/J	201	0.742	114	0.648
OR* (CI, 95%) (Pvalue)	Ref.		0.64 (0.42-0.97) P = 0.03	

* Comparison between J/J and C/J + C/C

Table. 3. Genotype frequencies and risk of cancer cases by sex

Genotypes	Control male		Control female		OR* (CI 95%) (P value)
	N = 128	Frequency	N = 143	Frequency	
C/C	4	0.031	3	0.021	1.58 (0.92-2.74) P= 0.1
C/J	35	0.273	28	0.196	
J/J	89	0.695	112	0.783	
Genotypes	Lung cancer male		Lung cancer female		OR (P value)
	N = 150	Frequency	N = 26	Frequency	
C/C	4	0.027	-	-	1.57 (0.62-3.98) P= 0.34
C/J	51	0.340	7	0.269	
J/J	95	0.633	19	0.731	
OR* (CI 95%) (P value)	0.76 (0.46-1.25) P = 0.28		0.75 (0.29-7.95) P = 0.56		

* Comparison between J/J and C/J + C/C

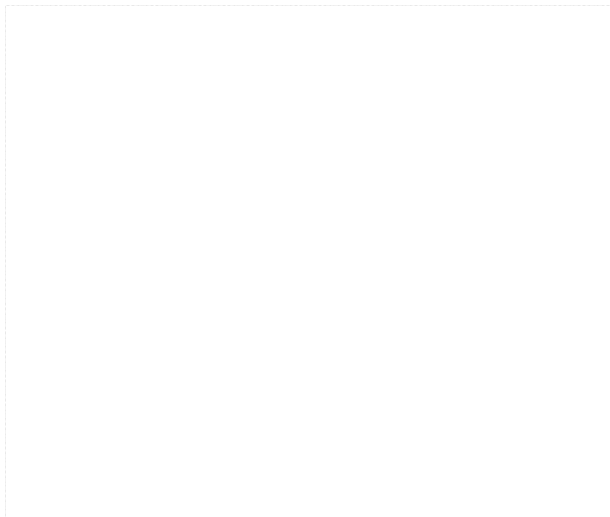


Fig. 3. Distribution of the *UGT2B17* insertion/deletion frequencies in different population samples. Note the high frequency of the gene deletion in most Korean (A), intermediate frequency in Swiss (B) [11] and American-caucasian (C) [13], and low frequency in African-american (D) [13].

동일하게 나타나는 것은 아닌 것으로 보고된 바 있다. 이전 연구에 따르면 인종 별로 *UGT2B17* 유전자의 결실 빈도가 다르게 나타나는 것으로 확인이 되었다[6,11,17,18,23]. 즉, *UGT2B17* 유전자의 삽입형질을 가지는 빈도가 가장 높은 인종으로는 아프리카인, 다음으로 유럽과 서아시아 인구, 마지막으로 제일 낮은 빈도를 보이는 인종이 한국, 일본 등이 포함된 동아시아 지역의 인구였다. 따라서 동아시아 지역이 *UGT2B17* 유전자의 결실 빈도가 높게 나타난다고 알려져 있다[11,23].

본 연구에서는 대조군 한국인 271명과 폐암 환자그룹을 176명을 포함하여 총 447명을 비교하였다. 폐암과 결실 다형성 간에 상관성이 확인되지 않아 전체를 합하여 한국인의 형질 빈도로 조사하였다. 그 결과, *UGT2B17* 유전자가 모두 결실된

(J/J) 빈도를 앞선 연구에서 보고된 것과 비교하면, 스위스인 (B)이 9%[11], 미국 백인 그룹(C)이 11%[18], 미국 흑인 그룹 (D)이 12%[18]로 한국인이 74%(A)에 비해 현저히 낮은 결실 빈도를 나타냈다(Fig. 3).

고 찰

UDP glycosyltransferase는 인체 내 또는 외부로부터 유입된 발암원등을 포함한 독성물질들을 glucuronidation 과정을 통하여 대사산물로 전환시킨 후 체외로 배출하게 한다 [8,15,16]. UGTs를 암호화하는 유전자는 4개의 subfamily로 이루어져 있으며 이들 중 UGT2B family는 인간의 4번 염색체 q13 영역에 밀집하여 위치하고 있다[16,20,21]. *UGT2B17*은 폐암과 관련한 연구가 많이 이루어지고 있는데 특히 담배 고유 발암물질인 tobacco-specific nitrosamine 중에서도 가장 강력한 NNK와 NNK의 대사산물인 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol (NNAL)이 폐암, 췌장암, 구강암, 식도암, 전립선암 등 여러 암과 연관되어 있는 것에 주목하였다 [6,8,20].

따라서 본 연구에서는 이러한 UGTs 유전자 중 *UGT2B17* 유전자의 CNV 분포를 정상 대조군과 폐암 환자 그룹에서 *UGT2B17* 유전자의 삽입/결실 빈도를 확인하고, 그 빈도에 따른 대조군과 폐암 환자의 차이를 비교하여 폐암과 결실 대립형질 빈도와의 연관성을 조사하였다. 대조군과 폐암 환자에서 유전자형에 따라 분석한 결과, 결실동형접합(J/J)을 가진 경우 암에 대한 감수성이 약 0.64배(95% CI: 0.42-0.97, p=0.03) 정도로 감소하며 이는 통계학적으로 유의한 값으로 확인되었다. 이러한 결과는 결손 대립형질이 *UGT2B17* 유전자 기능 상실로 연결되는 것을 고려할 때, 유전자 결실이 있는 경우 암 발생위험도가 낮아지는 상반적인 결과를 나타낸 것이다. 그러므로 폐암 환자 그룹이 대조군에 비해 여성 비율이 낮은 것을 고려하여, 여성과 남성으로 나누어서 재분석을 수행한 결과,

각각 여성과 남성 그룹 간의 차이를 나타내지 않았다. 그러므로 한국인의 경우 *UGT2B17* 유전자의 삽입/결실 빈도가 암 발생 위험과는 연관성이 없는 것으로 나타나, 앞선 백인의 실험과 차이를 나타내었다[6,18].

그러나 전체 *UGT2B17* 유전자의 삽입/결실 빈도를 민족 간에서 상호 비교한 결과 흑인에서 유전자 결실 형질이 단지 12% 나타난 것에 비해 한국인의 경우는 약 74%로 현저히 높은 것을 확인할 수 있다. 이는 결실 빈도가 낮은 민족에서는 이 유전자가 많은 중요 기능을 할 것으로 사료되나, 한국인과 같이 결실이 높은 비율로 나타나는 민족에서는 *UGT2B17* 유전자가 기능을 못하는 경우 많은 family를 갖는 유전자이므로 다른 유전자가 이 기능의 많은 부분을 대체할 수 있을 가능성을 예측할 수 있다. 그러므로 *UGT2B17* 유전자의 결실이 암 발생 위험과는 연관성이 없는 것으로 나타난 결과는 한국인에 있어서는 다소 타당한 것으로 보인다. 또한 통계적 유의성은 나타나지 않았으나, 폐암을 가진 남성보다 여성 그룹에서 *UGT2B17* 유전자의 결실을 가질 때 약 1.57배 정도 위험도가 증가하는 것으로 나타났다(95% CI; 0.62-3.98, p=0.34). 이는 대조군에서도 여성이 남성에 비해 높은 결실 빈도를 나타낸 것은 좀 더 많은 샘플을 이용하여 추가적인 실험이 이루어진다면 좀 더 의미를 가질 것으로 사료된다.

또한 이전의 보고에 따르면 *UGT2B17* 유전자의 삽입/결실 빈도가 모든 인종에서 동일하게 나타나지 않으며, 인종 별로 *UGT2B17* 유전자의 결실 빈도가 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다[6,11,18]. 본 연구에서 확인한 한국인의 결실 빈도 (J/J)는 이전에 연구된 다른 인종에 비해 매우 높고, 특히 한국인이 Caucasian 보다 약 7배 이상, 그리고 African-american 보다 약 6배 이상의 높은 결실을 가지는 것으로 확인되었다 [18]. 그러므로 *UGT2B17* 유전자의 삽입/결실 다형성은 한국인에 있어서는 암 감수성 마커로 사용이 어려우나, 인류 진화학적 연구에 있어 민족 간의 진화적 마커로서의 사용은 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 동아대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

References

- Bao, B. Y., B. F. Chuang, Q. Wang, O. Sartor, S. P. Balk, M. Brown, P. W. Kantoff, and G. S. Lee. 2008. Androgen receptor mediates the expression of UDP- glucuronosyltransferase 2 B15 and B17 genes. *Prostate* **68**, 839-848.
- Beaulieu, M., E. Lévesque, D. W. Hum, and A. Bélanger. 1996. Isolation and characterization of a novel cDNA encoding a human UDP-glucuronosyltransferase active on C19 steroids. *J. Biol. Chem* **271**, 22855-22862.
- Chakravarti, A. and A. Lynn. 2004. Meiotic mapping in human. In: Birren B., E. D. Green, S. Klapholz, R. M. Myers, Roskams (eds.), *Genome analysis: A laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, CSH, NewYork Vol 4*.
- Chen, G., R. W. Dellinger, D. Sun, T. E. Spratt, and P. Lazarus. 2008. Glucuronidation of tobacco-specific nitrosamines by *UGT2B10*. *Drug Metab Dispos* **36**, 824-830.
- Chouinard, S., O. Barbier, and A. Bélanger. 2007. UDP-glucuronosyltransferase 2B15 (*UGT2B15*) and *UGT2B17* enzymes are major determinants of the androgen response in prostate cancer LNCaP cells. *J. Biol. Chem* **282**, 33466-33474.
- Gallagher, C. J., F. F. Kadlubar, J. E. Muscat, C. B. Ambrosone, N. P. Lang, and P. Lazarus. 2007. The *UGT2B17* gene deletion polymorphism and risk of prostate cancer. A case-control study in Caucasians. *Cancer Detect Prev* **31**, 310-315.
- Gallagher, C. J., J. E. Muscat, A. N. Hicks, Y. Zheng, A. M. Dyer, G. A. Chase, J. Richie, and P. Lazarus. 2007. The UDP-glucuronosyltransferase 2B17 gene deletion polymorphism: sex-specific association with urinary 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol glucuronidation phenotype and risk for lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **16**, 823-828.
- Guillemette, C. 2003. Pharmacogenomics of human UDP-glucuronosyltransferase enzymes. *Pharmacogenomics J* **3**, 136-158.
- Hecht, S. S., S. G. Carmella, I. Stepanov, J. Jensen, A. Anderson, and D. K. Hatsukami. 2008. Metabolism of the tobacco-specific carcinogen 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone to its biomarker total NNAL in smokeless tobacco users. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **17**, 732-735.
- Hirsch, F. R., M. V. Garcia, F. Cappuzzo, and et al. 2007. Combination of EGFR gene copy number and protein expression predicts outcome for advanced non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *Ann. Oncol* **18**, 752-760.
- Jakobsson, J., L. Ekström, N. Inotsume, M. Garle, M. Lorentzon, C. Ohlsson, H. K. Roh, K. Carlström, and A. Rane. 2006. Large differences in testosterone excretion in Korean and Swedish men are strongly associated with a UDP-glucuronosyl transferase 2B17 polymorphism. *J. Clin. Endocrinol Metab* **91**, 687-693.
- Jemal, A., K. C. Chu, and R. E. Tarone. 2001. Recent trends in lung cancer mortality in the United States. *J. Natl. Cancer Inst* **93**, 277-283.
- Kim, Y. C., Y. S. Kwon, I. J. Oh, K. S. Kim, S. Y. Kim, J. S. Ryu, H. K. Yum, S. J. Yong, K. H. Lee, C. G. Lee, S. Y. Lee, S. Y. Lee, M. H. Jung, E. T. Jeong, and K. H. In. 2007. National survey of lung cancer in Korea, 2005. *J. Lung Cancer* **6**, 67-73.
- Lazarus, P., Y. Zheng, E. A. Runkle, J. E. Muscat, and

- D. Wiener. 2005. Genotype-phenotype correlation between the polymorphic UGT2B17 gene deletion and NNAL glucuronidation activities in human liver microsomes. *Pharmacogenet Genomics* **15**, 769-778.
15. Mackenzie, P. I., I. S. Owens, B. Burchell, K. W. Bock, A. Bairoch, A. Bélanger, S. Fournel-Gigleux, M. Green, D. W. Hum, T. Iyanagi, D. Lancet, P. Louisot, J. Magdalou, J. R. Chowdhury, J. K. Ritter, H. Schachter, T. R. Tephly, K. F. Tipton, and D. W. Nebert. 1997. The UDP glycosyltransferase gene superfamily: recommended nomenclature update based on evolutionary divergence. *Pharmacogenetics* **7**, 255-269.
 16. Mackenzie, P. I., K. W. Bock, B. Burchell, C. Guillemette, S. Ikushiro, T. Iyanagi, J. O. Miners, I. S. Owens, and D. W. Nebert. 2005. Nomenclature update for the mammalian UDP glycosyltransferase (UGT) gene superfamily. *Pharmacogenet Genomics* **15**, 677-85.
 17. Ménard, V., O. Eap, M. Harvey, C. Guillemette, and E. Lévesque. 2009. Copy-number variations (CNVs) of the human sex steroid metabolizing genes UGT2B17 and UGT2B28 and their associations with a UGT2B15 functional polymorphism. *Hum Mutat.* **30**, 1310-1319.
 18. Park, J., L. Chen, L. Ratnashinge, T. A. Sellers, J. P. Tanner, J. H. Lee, N. Dossett, N. Lang, F. F. Kadlubar, C. B. Ambrosone, B. Zachariah, R. V. Heysek, S. Patterson, and J. Pow-Sang. 2006. Deletion Polymorphism of UDP-Glucuronosyltransferase 2B17 and Risk of Prostate Cancer in African American and Caucasian Men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **15**, 1473-1478.
 19. Toschi, L. and F. Cappuzzo. 2007. Understanding the new genetics of responsiveness to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Oncologist* **12**, 211-220.
 20. Tukey, R. H. and C. P. Strassburg. 2000. Human UDP-glucuronosyltransferases: metabolism, expression, and disease. *Annu Rev. Pharmacol. Toxicol.* **40**, 581-616.
 21. Turgeon, D., J. S. Carrier, E. Lévesque, B. G. Beatty, A. Bélanger, and D. W. Hum. 2000. Isolation and characterization of the human UGT2B15 gene, localized within a cluster of UGT2B genes and pseudogenes on chromosome 4. *J. Mol. Biol.* **295**, 489-504.
 22. Wilson, W., F. Pardo-Manuel de Villena, B. D. Lyn-Cook, P. K. Chatterjee, T. A. Bell, D. A. Detwiler, R. C. Gilmore, I. C. Valladeras, C. C. Wright, D. W. Threadgill, and D. J. Grant. 2004. Characterization of a common deletion polymorphism of the UGT2B17 gene linked to UGT2B15. *Genomics* **84**, 707-714.
 23. Xue, Y., D. Sun, A. Daly, F. Yang, X. Zhou, M. Zhao, N. Huang, T. Zerjal, C. Lee, N. P. Carter, M. E. Hurles, and C. Tyler-Smith. 2008. Adaptive evolution of UGT2B17 copy-number variation. *Am J. Hum Genet.* **83**, 337-346.
 24. Yang, T. L., X. D. Chen, Y. Guo, S. F. Lei, J. T. Wang, Q. Zhou, F. Pan, Y. Chen, Z. X. Zhang, S. S. Dong, X. H. Xu, H. Yan, X. Liu, C. Qiu, X. Z. Zhu, T. Chen, M. Li, H. Zhang, L. Zhang, B. M. Drees, J. J. Hamilton, C. J. Papasian, R. R. Recker, X. P. Song, J. Cheng, and H. W. Deng. 2008. Genome-wide copy-number-variation study identified a susceptibility gene, UGT2B17, for osteoporosis. *Am J. Hum Genet.* **83**, 663-674.
 25. Yoon, Y. H., S. Y. Seol, J. H. Heo, C. N. Chung, I. H. Park, and S. H. Leem. 2008. Analysis of VNTRs in the solute carrier family 6, member 18 (SLC6A18) and lack of association with hypertension. *DNA and Cell Biology* **27**, 559-567.
 26. Zheng, Z., J. L. Fang, and P. Lazarus. 2002. Glucuronidation: an important mechanism for detoxification of benzo[a]pyrene metabolites in aerodigestive tract tissues. *Drug Metab Dispos.* **30**, 397-403.

초록 : UGT2B17 유전자의 deletion polymorphism과 폐암과의 연관성

이세라 · 인명현 · 설소영 · 이지선 · 정정남* · 임선희*
(동아대학교 자연과학대학 생명과학과)

Glucuronidation은 NNAL [4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol]의 주요 pathway이며, UGT2B의 family인 UGT2B17 (UGT, uridine diphospho-glucuronosyltransferase) 유전자는 발암원의 glucuronidation에 관여한다. UGT2B17 결손은 NNAL의 감소 수준과 특정 암에 있어 위험도를 증가시킨다. UGT2B17 유전자의 copy 수는 사람에서 개인별로 0~2로 다양하다. 본 연구에서는 UGT2B17 결손이 폐암의 위험도와 연관성을 가지는 것을 알아 보기 위해 한국인인 271명의 대조군과 176명의 폐암환자의 샘플로 PCR 방법으로 CNV를 조사하였다. 그 결과, 현재까지 보고된 백인과 흑인에 비해 한국인에서 결실 대립형질이 현저히 높게 나타났다. 백인에서 유전자 두 개 모두가 결실된 0 copy 수가 약 10%를 나타낸 것에 비해, 본 연구의 한국인에서는 0 copy 수가 약 74%를 나타내었다. 더욱이 양 쪽 결실이 여성그룹에서 전반적으로 남성그룹에 비해 높게 나타났다. 그러나 UGT2B17 유전자가 CNV와 폐암과의 연관성은 찾을 수 없었다. 이러한 결과는 UGT2B17 유전자의 결실이 폐암의 감수성과는 연관되어 있지 않으나, UGT2B17 CNV 다형성이 인종간의 진화적 분석의 유용한 마커로 사용이 가능할 것으로 사료된다.