http://dx.doi.org/10.4047/jkap.2011.49.4.341

단일염기다형성을 이용한 치과 질환 유전체 연구

김지환 · 이재훈*
연세대학교 치과대학 보철학교실

DNA 복제과정에서의 오류(error)에 의한 유전적 변이(genetic variation)를 통해 개개인이 가지고 있는 유전변이형을 조사하고 특정 질환에 대한 감수성의 차이를 밝히는 유전체 연관성 연구가 의학계 전반에 활발히 진행되고 있다. 개인 간의 DNA 상에 존재하는 염기서열의 차이를 보이는 유전적 변이를 통해 개인간의 형질이 다르게 표현 되는 것을 다형성이라고 하는데 다형성의 원인 중 염기 서열 한 쌍의 변이에 의하여 다른 형질로 표현되는 것을 단일염기다형성(Single Nucleotide Polymorphism; SNP)이라고 정의한다. 유전자 분석 기술의 놀랄만한 발전과 컴퓨터를 이용한 분석 프로그램의 개발에 의해 SNP과 질병의 연관성에 관한 연구는 의학계 모든 분야에서 가속화 되고 있다. 최근 급격하게 빨리 진척되는 연구들에 힘입어 특정 질병에 대한 특정 유전자가 가지는 위험도를 분석하고 환자를 유전적 위험도에 따라 분류하여 진단, 예방 및 치료하는 환자 맞춤식의 진료가 모든 의약학 분야에 적용 될 것으로 생각 된다. 치과 영역에서는 충치와 치주 질환과의 관련성에 대해서 초기 단계의 연구가 진행되고 있는 수준이다. 본 종설에서는 유전체 질병 연구의 현황과 치과 영역에서 시작된 연구를 소개 하고자 한다. *(대한치과보철학회지 2011;49:341-5)*

주요단어: 단일염기 다형성; 치과학; 유전자 변이

서론

75조개에 달하는 세포는 인체를 구성하는 가장 기본이 되는 단위이며 이러한 세포가 모여서 조직과 기관을 형성하고, 이들의 유기적인 상호 작용을 통하여 대사활동에 필요한 모든 생물학적 기능이 효율적으로 조절되면서 항상성을 유지한다. 세포 안에 존재하는 핵에는 유전물질인 DNA (deoxyribonucleic acid)와 histone 및 non-histone 단백질들로 구성된 염색체(chromosome)가 함유되어 있다. 인체의 매일 매일의 신진대사 중 발생하는 필요에 따라 유전 정보를 지닌 DNA가 전사(Transcript)되어 mRNA를 합성하여 핵 밖으로 이동시키고 핵을 빠져 나온 RNA는 세포질 안에서 필요한 단백질로 합성 되어 세포 밖으로 배출되어 신진대사에 필요한 효소와 호르몬 등의 물질로 사용된다. 세포 내 핵에 존재하는 염색체 내에 유전자는 약 31억 개의 염기(Nucleotide)서열의 조합으로 구성되어 있으며 이중 인간의 체내에서 다양한 기능을 하는 단백질을 합성하는 32,884개 이상의 유전자가 존재 하는 것으로 알려져 있다.[1] 2003년도에 인간유전체연구사업(Human Genome Project; HGP)에 의해 인간이 가지고 있는 염색체 내의 모든 염기 서열이 밝혀졌고 전 세계적으로 모든 유전자의 수와 유전적 변이형의 최신 정보가 갱신되고 있다.[2] 밝혀진 염기 서열을 조사해 본 결과 모든 인간은 약 99.9% 동일한 유전적 염기 서열을 지니고 있으며 약 0.1%의 염기 서열 차이로 인해 개인 간의 유전적 차이를 나타내는 것으로 밝혀 졌다. 이러한 DNA 복제 과정에서의 오류(error)에 의한 유전적 변이(genetic variation)를 통해 개개인이 가지고 있는 유전 변이형을 조사하고 특정 질환에 대한 감수성의 차이를 밝히는 유전체 연관성 연구가 의학계 전반에서 활발히 진행되고 있다. 본 종설에서는 유전체 질병 연구의 현황과 치과영역에서 시작된 연구를 소개 하고자 한다.

단일염기 다형성(Single nucleotide polymorphism)

다형성(polymorphism)이란 DNA 상에 존재하는 염기서열의 차이를 보이는 유전적 변이를 통해 개인간의 형질이 다르게 표현 되는 것을 말한다. 즉 어떤 사람은 흰색의 피부색을 가지고 파란 눈을 가지고 태어나며 어떤 사람은 검은 피부에 곱슬머리로 태어나는 것은 이러한 염기쌍의 차이에 기인 된다고 하겠다. 이 가운데 다형성이라고 지칭 할 수 있는 경우는 표현되는 형질의 빈도가 일반 집단에서 나타나는 대립인자 가운데 낮은 빈도의 대립인자가 1% 이상으로 분포할 경우를 일컬으며 1%이하는 돌연변이로 지칭한다. 이러한 다형성의 원인 중 염기 서열 한 쌍의 변이에 의하여 다른 형질로 표현 되는 것을 단일염기다형성(Single Nucleotide Polymorphism)이라고 정의한다. SNP은 인간이 가지고 있는 유전 변이형 중에서 가장 많이 존재하는 유전변이형이며 인간에게 발생하는 여러 질병과 밀접한 관계가 있는 것으로 밝혀 졌으며 SNP과 질병관련 유전자에 관

*교신저자: **이재훈**
120-752 서울시 서대문구 성산로 250 연세대학교 치과대학 보철과 02-2228-8711: e-mail, jaehoon115@yuhs.ac
원고접수일: 2011년 7월 7일 / 원고최종수정일: 2011년 8월 17일 / 원고채택일: 2011년 9월 15일

한 연관성 연구가 활발히 진행 중에 있다. SNP 발굴을 위한 컨소시움이 열려 1998년부터 2001년까지 사업이 진행되어 총 180만개의 SNP을 발굴하였고,[2] 유전변이형 정보를 체계적으로 수집하고 일반 연구자에게 전달하기 위해서는 만들어진 NCBI의 dbSNP에 의하면 현재 dbSNP에 등록된 수가 무려 2,365만 개 이상으로 조사되었고(dbSNP build 131; 2010년 5월 기준) 향후 지속적인 발굴로 그 수는 더욱 늘어날 것으로 예측하고 있다.

SNP은 유전체상에 존재하는 위치와 기능적 측면에서 여러 종류로 나눠 볼 수 있다. 유전체 상에 존재하는 위치에 따라 분류해 보면 Regulatory SNP (rSNP)은 유전자의 프로모터 부위에 위치하여 유전자의 발현을 조절하는 기능을 지닌 SNP을 말하며, Coding SNP (cSNP)은 유전자를 coding하는 exon 부위에 존재하는 SNP을 지칭하고, Intron SNP (iSNP)는 intron에 위치하고 Genomic SNP (gSNP)은 유전자와 유전자 사이의 intergenic region에 존재하는 SNP을 말한다. 아미노산 서열 변이의 유무에 따라 Nonsynonymous SNP과 synonymous SNP으로 분류된다. 이 가운데 유전자의 기능 변화에 직접적으로 관여하며 발현을 조절할 수 있는 exon 앞에 위치하는 rSNP과 cSNP이 표현형의 변화를 초래할 수 있는 기능적 SNP일 가능성이 매우 높은데 이는 rSNP과 cSNP에서의 변화는 기능적 아미노산 서열에 변화를 초래할 가능성이 높기 때문이다(Fig. 1).

질병 유전체 연구

방대한 양의 SNP을 질병을 일으키는 질환에 모두 적용하여 조사하는 것은 그 연구 효과나 비용면에서 쉽지 않을 수 있으므로 SNP과 질병과의 연관성 연구에 앞서 SNP의 유전되는 양상을 살펴보는 것은 연구방법 및 설계를 이해하는데 도움을 줄 수 있다. SNP에 의해 전달 되는 유전형은 세대를 거쳐 다음 세대에 높은 안정성을 가지고 유전 된다. 따라서 밝혀진 SNP에 의한 질병의 연관성은 높은 신뢰도를 가지고 임상지표로 이용될 수 있다. 초창기 방대한 SNP의 양으로 인해 연구조사 대상 SNP의 수가 효율성을 넘어서 연구의 한계를 초래 하였으나 SNP의 유전되는 형태가 각각 독립적이기 보다는 군락을 형성하므로 보다 효율적인 연구가 가능하다. 서로 다른 독립된 두 염색체 위에 존재하는 2개의 유전좌위(Locus)는 각각 독립적으로 분리되어 다음 세대에 전달 되지만 가까이 존재하는 2개의 유전자위는 서로 연관(Linked)되어 하나의 동일한 블락으로 다음 세대에 전달된다. 이러한 유전자형들의 조합들은 연관된 정도에 따라 일배체 블락(Haplo block)을 형성하게 되며 일배체 블락이 하나의 독립된 마커로 사용될 수 있다, 또한 각 일배체군을 대표하는 tag SNP을 찾아서 높은 정보력을 가진 유전 마커로 활용 가능하며 이러한 방법을 통해 대상 SNP 선별 시 SNP의 수를 낮추고 보다 낮은 비용과 높은 효율을 지닌 연구가 활발히 진행될 수 있었다. 다른 SNP연구에서 밝혀진 특징은 적은 수의 SNP만이 기능적으로 형질 변화에 영향을 미친다는 점이다. 연구에 의하면 유전자의 코딩 영역에 존재하는 cSNP은 평균적으로 약 3.7개가 존재하며 이는 유전자당 약 2.0개의 synonymous SNP과 1.8개의 non-synonymous SNP으로 구성된다고 연구되었다.[4] 따라서 연구에 필요한 SNP의 수의 선택은 기능적으로 변화를 초래하는 유전변이형만을 선별하여 SNP의 전수 조사가 아닌 선택적 조사로서 유전체 관련 질병 연구에 보다 용이하게 적용할 수 있게 되었다(Fig. 2).

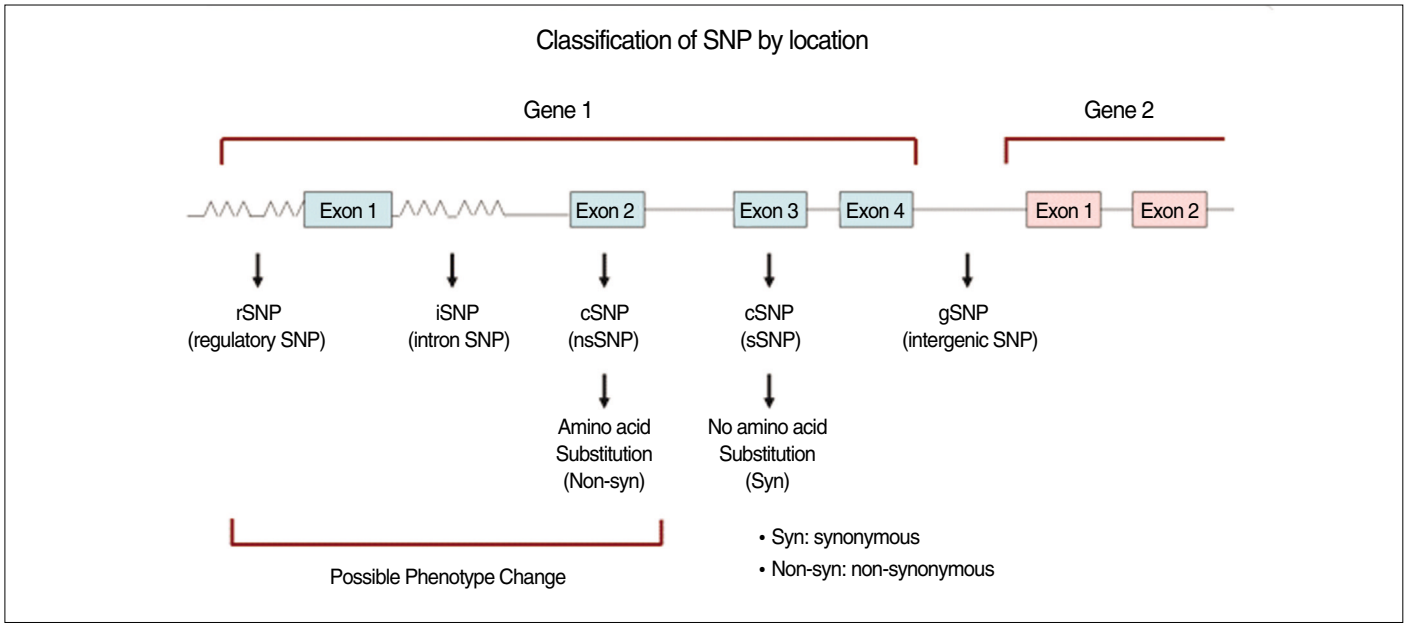

Fig. 1. Classification of SNP by location.[3]

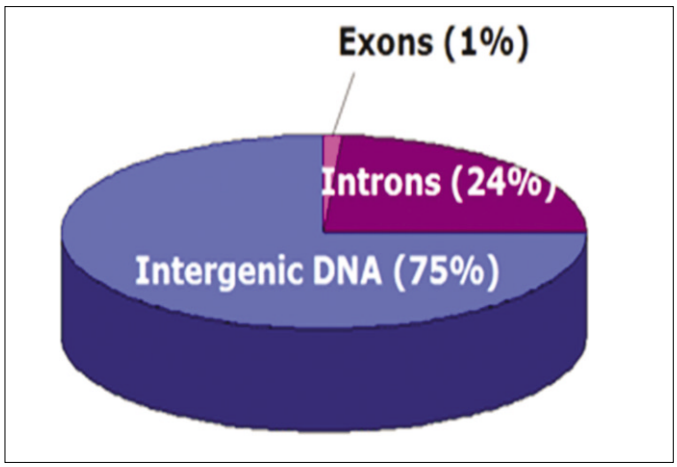

Fig. 2. Distribution of DNA according to functional location.[4]

유전자 분석법(Genetic analysis)

하나의 SNP과 특정 질환과의 연관관계를 규명 하고 특정 질환의 표식자로서 사용 되기 위해서는 많은 단계를 거치게 된다. 먼저 연구 대상의 집단을 대상으로 질병과 관련이 있을 것으로 생각되는 유전자 내에 1%이상 존재하는 SNP을 유전체 시료를 통해 발굴한다. 과거에는 주로 혈액 채취를 통한 유전체 시료의 채취가 주로 이루어졌으나 최근에는 보다 간편히 약 10 ml의 타액을 통해 쉽게 채취한다. 추출한 DNA 내에서 발견된 SNP이 질병의 특정 표현형과 연관되었는지를 조사하기 위한 연관성 연구를 통해 특정 질환의 유전적 마커로 사용될 수 있다. 발견된 특정 SNP이 환자 집단과 정상인 집단 간의 비교에서 유의적인 빈도의 차이로 관찰 된다면 아주 유용한 유전자 표식 SNP으로 선발되어 임상 시험을 거치게 되고 경제적으로 유용한 유전 지표로 실제 임상에 사용될 수 있다. SNP의 다형성(polymorphism)을 통한 질병의 발생에 대한 유전자 분석법은 질병에 관련된 유전적 영향력의 크기와 질병 유전자의 수에 따라 유전자 연관분석(linkage analysis) 또는 연관성 연구(association study)를 사용 할 수 있다. 유전자 연관 분석은 질병의 발병 원인이 유전자 빈도가 낮은 단일 유전자에 의한 높은 정도의 전달 정도를 가진 질병(Mendelian disorder)인 경우 사용된다. 대개 상대적 위험도는 매우 높지만 집단 내 위험도는 낮은 것이 특징이다. 유전성이 강한 질환들에 적합하며 대게 가계에서 질병과 함께 전달되는 마커의 염색체 위치를 확인 후 보다 세밀한 위치를 찾아 질병에 관련된 유전자와 원인 유전 변이형을 규명하는 방법이다. 발병 원인이 높은 유전자의 빈도를 가진 여러 유전자에 의한 경우 연관성 연구(Association study)를 통해 분석한다. 전달 정도와 상대적 위험도는 단일 유전자 질병에 비해 떨어지지만 집단 내에 위험도는 높다.

치과영역에서의 질병 유전체 연구

연구가 활발 하지 않은 치과영역의 SNP연구 중에서 비교적 많은 연구가 진행된 분야는 구강악안면 부위에 존재하는 선천성 구순 구개열(cleft)에 관한 연구이다. 대표적인 최근 연구로 폴란드계 백인 소아 환자 180명의 환자와 어머니와의 가계 유전 연관 분석을 통해 choline metabolism에 연관된 유전자 BHMT, BHMT2, CHKA 등의 18개의 SNP을 조사하였다. BHMT2 (rs673752), PEMT (rs12325817), PCYT1A (rs712012)이 구개열의 발생과 밀접한 관계를 가지고 있는 것으로 보고되었다.[5] Nonsyndromic 구순 구개열(NSCLP)에 영향을 미치는 유전자인 intron regulatory factor 6 (IRF6)의 rs2235371 SNP이 히스패닉이 아닌 백인종에서 강한 연관이 있는 것으로 보고 되었다.[6] 중국 한족을 대상으로 한 연구에서 세포간의 부착에 중요한 역할을 하며 정상적인 악안면과 경구개의 융합에 연관된 유전자인 CDH1의 유전 변이형 rs16260이 프로모터 부위에서 변이를 일으키며 cleft palate에만 영향을 미치는 것으로 조사되었다.[6]

치과영역에서 또 유전성이 강할 것으로 추정되는 질환은 급진성 치주염(aggressive periodontitis) 일 것이다. 2002 년에 급진성 치주염이 있는 환자와 정상 치주조직을 가진 환자에서 IL-1 (Interleukin-1) 유전자형의 차이가 있음을 제시하였고 IL-1 유전자의 다형성이 급진성 치주염과 연관됨을 제시하였었다.[7] 이후 2010년부터 치주염과 관련된 단일 염기 다형성에 대한 연구가 많이 보고 되어왔다.[8-15] 급진성 치주염과 같은 염증성 질환에 연관이 있는 S100A8 gene에 관한 연구로 73 가계(nuclear family)에 20명의 중국 한족을 대상으로 한 유전 연관성 연구에서 rs3795391(A > G)이 질병의 발병과 밀접한 관련이 있음이 보고되었다.[8] 치아의 발치에 따르는 치조제 흡수에 관한 유전적 연관성 연구로 Wit3.0 gene에 대한 연구가 있다.[16] 치아 발치에 따르는 악골의 치조제 흡수는 추후 보철 치료를 어렵게 하고 합병증을 유발 시킬 수 있는데 이러한 치조골 흡수의 양은 환자 간에 차이가 크며 흡수의 발현 기전은 알려져 있지 않다. 치아 발치 후 조직의 치유와 치조제 상실에 영향을 미칠 것으로 생각되는 유전자인 wit 3.0 gene 상의 단일 염기 다형성과 치조제 상실 간의 연관성 연구를 통해 고위험군의 상대적 위험도와 질병 관련 유전 표식자를 얻고자 하는 연구로 두 개의 SNP rs840869와 rs859024에서 의미 있는 연관성을 보여 주었다.

최근 SNP와 관련된 다양한 연구로는 골격성1급 부정교합 환자와 연관되는 SNP에 대한 연구[17]와 구강내 점막 질환과 연관되는 SNP에 대한 연구[18,19]와 비호츠킨성 림프종과 연관되는 SNP에 대한 연구[20] 등이 있으며 최근에 국내에서 소개된 질병 유전체 연구로는 상아질의 형성에 중요한 역할을 하는 유전자인 Amelogenin의 유전적 변이와 충치와의 연관성에 관한 연구이다.[21] 12세 이상의 충치가 있는 120명의 한국인을 대상으로 충치의 유병율의 정도로 나눠진 그룹간의 비교에서 Amelogenin의 intron에 존재하는 rs5933871 및 rs5934997 SNP과 충치와의 연관성을 보고 하였다.

결론

2003년 인간 유전체 연구 사업에서 밝혀진 염색체 정보 보다 더 정확하고 완전한 정보를 세계 모든 연구자가 공유할 수 있는 것을 목표로 2008년에 영국, 중국 및 미국이 중심이 되어 3년간 총 1000명의 인간 유전체에 대한 완전한 염기서열 분석 사업이 국제 공동 연구로 이루어지고 있다. 유전체 전체 영역에서 1% 이상의 빈도를 가진 유전변이형과 0.1 - 0.5% 이상의 빈도를 가진 유전 변이형을 95%이상 발굴할 계획이다. 많은 개인 유전체에 포함된 희귀 유전 변이형은 아직 밝혀지지 않은 많은 질환에 관련된 유전체 분석에 중요한 정보로 활용될 것이다. 이러한 급진적 유전정보의 활용으로 멀지 않은 시기에 모든 질병의 유전자가 가지는 위험도를 분석하고 환자를 유전적 위험도에 따라 분류하여 진단, 예방 및 치료하는 것을 가능하게 하는 환자 맞춤식의 진료가 모든 의약학 분야에 적용될 것으로 생각된다. 모든 환자를 획일적인 치료 계획 선상에서 치료하던 단계에서 전체 인간 유전변이의 90%이상을 차지하는 단일염기다형성 마커의 개발을 통해 보다 진일보한 치료적 접근이 가능해 질 것으로 큰 기대를 가질 수 있겠다.

참고문헌

1. Lee JG. Genetic variation and disease. 2nd ed. Seoul: Worldscience 2010. p. 3.
2. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature 2004; 431:931-45.
3. Lee JG. Genetic variation and disease. 2nd ed. Seoul: Worldscience 2010. p. 110.
4. Crawford DC, Akey DT, Nickerson DA. The patterns of natural variation in human genes. Annu Rev Genomics Hum Genet 2005; 6:287-312.
5. Mostowska A, Hozyasz KK, Biedziak B, Misiak J, Jagodzinski PP. Polymorphisms located in the region containing BHMT and BHMT2 genes as maternal protective factors for orofacial clefts. Eur J Oral Sci 2010;118:325-32.
6. Blanton SH, Burt A, Garcia E, Mulliken JB, Stal S, Hecht JT. Ethnic Heterogeneity of IRF6 AP-2a Binding Site Promoter SNP Association With Nonsyndromic Cleft Lip and Palate. Cleft Palate Craniofac J 2010;47:574-7.
7. Tai H, Endo M, Shimada Y, Gou E, Orima K, Kobayashi T, Yamazaki K, Yoshie H. Association of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms with early onset periodontitis in Japanese. J Clin Periodontol 2002;29:882-8.
8. Ren XY, Xu L, Meng HX, Zhao HS, Lu RF, Chen ZB, Feng XH, Shi D, Zhang L, Tian Y. Family-based association analysis of S100A8 genetic polymorphisms with aggressive periodontitis. J Periodontal Res 2009;44:184-92.
9. Sahingur SE, Xia XJ, Gunsolley J, Schenkein HA, Genco RJ, De Nardin E. Single nucleotide polymorphisms of pattern recognition receptors and chronic periodontitis. J Periodontal Res 2011;46: 184-92.
10. Andia DC, de Oliveira NF, Letra AM, Nociti FH Jr, Line SR, de Souza AP. Interleukin-8 gene promoter polymorphism (rs4073) may contribute to chronic periodontitis. J Periodontol 2011;82: 893-9.
11. Wu YM, Chuang HL, Ho YP, Ho KY, Tsai CC. Investigation of interleukin-13 gene polymorphisms in individuals with chronic and generalized aggressive periodontitis in a Taiwanese (Chinese) population. J Periodontal Res 2010;45:695-701.
12. Chai L, Song YQ, Zee KY, Leung WK. Single nucleotide polymorphisms of complement component 5 and periodontitis. J Periodontal Res 2010;45:301-8.
13. Chai L, Song YQ, Zee KY, Leung WK. SNPs of Fc-gamma receptor genes and chronic periodontitis. J Dent Res 2010;89: 705-10.
14. Anovazzi G, Kim YJ, Viana AC, Curtis KM, Orrico SR, Cirelli JA, Scarel-Caminaga RM. Polymorphisms and haplotypes in the interleukin-4 gene are associated with chronic periodontitis in a Brazilian population. J Periodontol 2010;81:392-402.
15. Kobayashi T, Nagata T, Murakami S, Takashiba S, Kurihara H, Izumi Y, Numabe Y, Watanabe H, Kataoka M, Nagai A, Hayashi J, Ohyama H, Okamatsu Y, Inagaki Y, Tai H, Yoshie H. Genetic risk factors for periodontitis in a Japanese population. J Dent Res 2009;88:1137-41.
16. Suwanwela J, Lee J, Lin A, Ucer TC, Devlin H, Sinsheimer J, Garrett NR, Nishimura I. A genetic association study of single nucleotide polymorphisms in FGFR1OP2/wit3.0 and long-term atrophy of edentulous mandible. PLoS One 2011;6:e16204.
17. Ting TY, Wong RW, Rabie AB. Analysis of genetic polymorphisms in skeletal Class I crowding. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2011;140:e9-15.
18. Karasneh JA, Darwazeh AM, Hassan AF, Thornhill M. Association between recurrent aphthous stomatitis and inheritance of a single-nucleotide polymorphism of the NOS2 gene encoding inducible nitric oxide synthase. J Oral Pathol Med 2011 Apr 11.
19. Durrani O, Banahan K, Sheedy FJ, McBride L, Ben-Chetrit E, Greiner K, Vaughan RW, Kondeatis E, Hamburger J, Fortune F, Stanford MR, Murray PI, O'Neill LA, Wallace GR. TIRAP Ser180Leu polymorphism is associated with Behcet's disease. Rheumatology (Oxford) 2011;50:1760-5.
20. Kelly JL, Novak AJ, Fredericksen ZS, Liebow M, Ansell SM, Dogan A, Wang AH, Witzig TE, Call TG, Kay NE, Habermann TM, Slager SL, Cerhan JR. Germline variation in apoptosis pathway genes and risk of non-Hodgkin's lymphoma. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2010;19:2847-58.
21. Kang SW, Yoon I, Lee HW, Cho J. Association between AMELX polymorphisms and dental caries in Koreans. Oral Dis 2011;17:399-406.

Genetic association study of single nucleotide polymorphism in dentistry

Jee-Hwan Kim, DDS, MSD, PhD, **Jae-Hoon Lee***, DDS, MD, PhD
Department of Prodthodontics, Yonsei University College of Dentistry, Seoul, Korea

Genetic association study has been progressed in medicine along with advance in genetic technology. It focused on the individual differences in genotype due to errors occurring during DNA duplication, which can cause vulnerability to specific diseases. Polymorphism defines the varieties in phenotype due to those genetic variations. Polymorphism due to change in one DNA base sequence is called as a Single Nucleotide Polymorphism. In the near future, the evaluation of relative risk to specific disease according to SNP will be essential part of fundamental of medicine for the diagnosis, treatment and prevention. Dental caries and periodontal diseases has been first subject to genetic association study in dentistry and broaden out to other areas like bone formation and resorption. This article presents the current state of genetic association study and its application to dentistry. *(J Korean Acad Prosthodont 2011;49:341-5)*

Key words: Single nucleotide polymorphism; Dentistry; Genetic variation

Corresponding Author:* ***Jae Hoon Lee*
Department of Prodthodontics, Yonsei University College of Dentistry, 134 Sinchon-dong, Seodaemum-gu, Seoul 120-752, Korea
+82 2 2228 8711: e-mail, jaehoon115@yuhs.ac
Article history
Received July 7, 2011 / Last Revision August 17, 2011 / Accepted September 15, 2011