

Application of Transposable Elements as Molecular-marker for Cancer Diagnosis

Hyemin Kim^{1†}, Jeong-An Gim^{1,2,3*}, Hyejeong Woo¹, Jeonghyeon Hong¹, Jinyeop Kim¹ and Heui-Soo Kim^{1,2*}

¹Department of Biological Sciences, College of Natural Sciences, Pusan National University, Busan 46241, Korea

²Genetic Engineering Institute, Pusan National University, Busan 46241, Korea

³The Genomics Institute, Life Sciences Department, UNIST, Ulsan 44919, Korea

Received August 28, 2017 / Revised October 26, 2017 / Accepted October 26, 2017

Until now, various oncogenic pathways were identified. The accumulation of DNA mutation induces genomic instability in the cell, and it makes cancer. The development of bioinformatics and genomics, to find the precise and reliable biomarker is available. This biomarker could be applied the early-diagnosis, prediction and convalescence of cancer. Recently, Transposable elements (TEs) have been attracted as the regulator of genes, because they occupy a half of human genome, and the cause of various diseases. TEs induce DNA mutation, as well as the regulation of gene expression, that makes to cancer development. So, we confirmed the relationship between TEs and colon cancer, and provided the clue for colon cancer biomarker. First, we confirmed long interspersed nuclear element-1 (LINE-1), Alu, and long terminal repeats (LTRs) and their relationship to colon cancer. Because these elements have large composition and enormous effect to the human genome. Interestingly, colon cancer specific patterns were detected, such as the hypomethylation of LINE-1, LINE-1 insertion in the APC gene, hypo- or hypermethylation of Alu, and isoform derived from LTR insertion. Moreover, hypomethylation of LINE-1 in proto-oncogene is used as the biomarker of colon cancer metastasis, and MLH1 mutation induced by Alu is detected in familial or hereditary colon cancer. The genes, effected by TEs, were analyzed their expression patterns by in silico analysis. Then, we provided tissue- and gender-specific expression patterns. This information can provide reliable cancer biomarker, and apply to prediction and diagnosis of colon cancer.

Key words : Alu element, colon cancer, long interspersed nuclear element-1, long terminal repeats, transposable elements

서 론

대장암은 결장과 직장에 생기는 암으로서 세계적으로도 발생률이 높은 암이다. 보건복지부 중앙암등록본부의 2015년 발표자료에 따르면, 2013년에 우리나라에서 발생한 225,343건의 암 중 대장암은 남녀를 합쳐 27,618건을 차지하였다[26]. 이는 전체 암 발생률의 12.3%를 차지하는 수치로서, 발생률의 관점에서는 전체 암 종류 중 3위에 해당된다[26]. 또한 국제암연구소의 암 통계 데이터베이스인 GLOBOCAN 2012에 따르면, 전 세계적으로 대장암은 남성에서는 3번째로, 여성에게서는 2번째로 가장 많이 발생한 암이다[44]. 이렇게 발생률이 높은

대장암은 최근 몇 년 전부터 후성유전학적 종양 형성의 모델로서 그 중요성이 대두됨에 따라, 후성유전학적 측면에서 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히, 이동성 유전인자 및 DNA 메틸레이션과 관련한 대장암 바이오마커 연구가 활발히 진행되고 있다[43].

이동성 유전인자는 유전체 내에서 자유로이 움직일 수 있는 유전인자로, 인간 유전체에서 45%를 차지한다[14]. 이러한 이동성 유전인자는 인간 유전체 내에서 프로모터나 인핸서 등 유전자의 발현을 조절하는 역할을 한다[10, 34]. 또한 다른 유전자에 삽입되거나 유전자의 재배열을 일으키면서 질병을 발생시키기도 한다[8, 23]. DNA 메틸레이션은 DNA의 CpG island에 있는 사이토신에 메틸기가 결합하는 현상을 말한다. 특정 유전자의 CpG island에 과메틸화가 일어나면 그 유전자의 발현은 저해된다. 이동성 유전인자의 DNA 메틸레이션 양상의 변화는 인근 유전자의 유전자 발현 양상을 변화시킴으로써 유전자 발현 조절 기능을 수행하고 있다[34]. 이러한 이동성 유전인자의 DNA 메틸레이션 양상의 변화는 암세포에서 흔히 일어난다[34, 43].

우리는 전 세계적으로 흔히 발생하는 대장암의 바이오마커

[†] Authors contributed equally.

*Corresponding author

Tel : +82-51-510-2259, Fax : +82-51-581-2962

E-mail : khs307@pusan.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

를 발굴하기 위해 대장암 샘플에 있어서 특이적인 이동성 유전자의 발현 및 DNA 메틸레이션 양상에 대하여 주목하였다. 그리고 이동성 유전인에 의한 유전체 불안정성 및 유전체 재배열과 같은 현상과 더불어, 이동성 유전인의 비정상적인 DNA 메틸레이션 양상에 대하여 논의하였으며, 암 진단 바이오마커로서의 가능성에 대해 분석하였다.

본 론

대장암에서 LINE-1의 프로모터로서의 기능 및 메틸화에 의한 조절

인간 유전체의 약 17%를 구성하고 있는 LINE-1은 LINE (Long interspersed nuclear element)의 한 종류로 RNA 인식 모티프를 갖고 있는 ORF1과 제한효소와 역전사효소를 포함한 단백질 복합체를 암호화하는 ORF2로 이루어져 있다(Fig. 1A). ORF의 상류 부분에 5'UTR이 포함되어 있는데, 이는 강한 활성을 갖고 있는 RNA 중합효소 II 전사 센스 프로모터와 함께 상대적으로 덜 강한 안티센스 프로모터를 포함하고 있다 [20, 37]. 인간유전체 내 LINE-1의 다수는 비활성 상태이지만, 몇몇은 역전사효소로서의 기능을 가지고 있다[28].

MET 유전자의 발현은 MET 유전자 영역 주변에 위치한

LINE-1 영역의 메틸화 양상에 의해 조절된다[42]. 정상적으로는 LINE-1이 메틸화되어 있어 MET유전자의 전사가 억제되지만, LINE-1의 저메틸화가 일어날 경우, 메틸기에 의해 억제되어 있던 LINE-1의 안티센스 프로모터가 작동함으로써 결장암의 전이 및 진행에서 MET 원발암 유전자의 전사를 유발한다 [9]. 이러한 비정상적인 전사로 인해 MET유전자가 원발암 유전자로 작용하게 되며, 이는 대장암의 전이가 진행될 때 더 많이 유발된다(Table 1).

LINE-1의 프로모터 메틸화는 5'-CCGG-3' 서열을 인식에서 자르는 Isoschizomer인 *MspI*와 *HpaII*의 작용을 통해 확인할 수 있다(Fig. 1B). 각각의 두 제한효소는 위 서열을 인식하여 CC/GG로 잘라냄으로써 blunt end를 만든다. 이 때에, *MspI*은 위 서열의 두 번째 사이토신과, 세 번째 구아닌과 상보적인 사이토신에 메틸화가 될 경우 위 서열을 잘라 내는 반면에, *HpaII*는 잘라낼 수 없다. 한편, 위 서열의 한 쪽에만 메틸화가 되어 있을 경우, *MspI*은 못 잘라내는 반면에, *HpaII*는 잘라낼 수 있다. 하지만, 위 서열 내의 모든 사이토신이 메틸화 될 경우, 위의 두 제한효소 모두 잘라낼 수 없다[32]. 즉, 각각의 사이토신 메틸화를 확인하기 위해서 *MspI*와 *HpaII* 효소를 사용할 수 있다(Fig. 1B).

결장암 환자들의 종양조직과, 인근 정상 조직의 DNA에 이

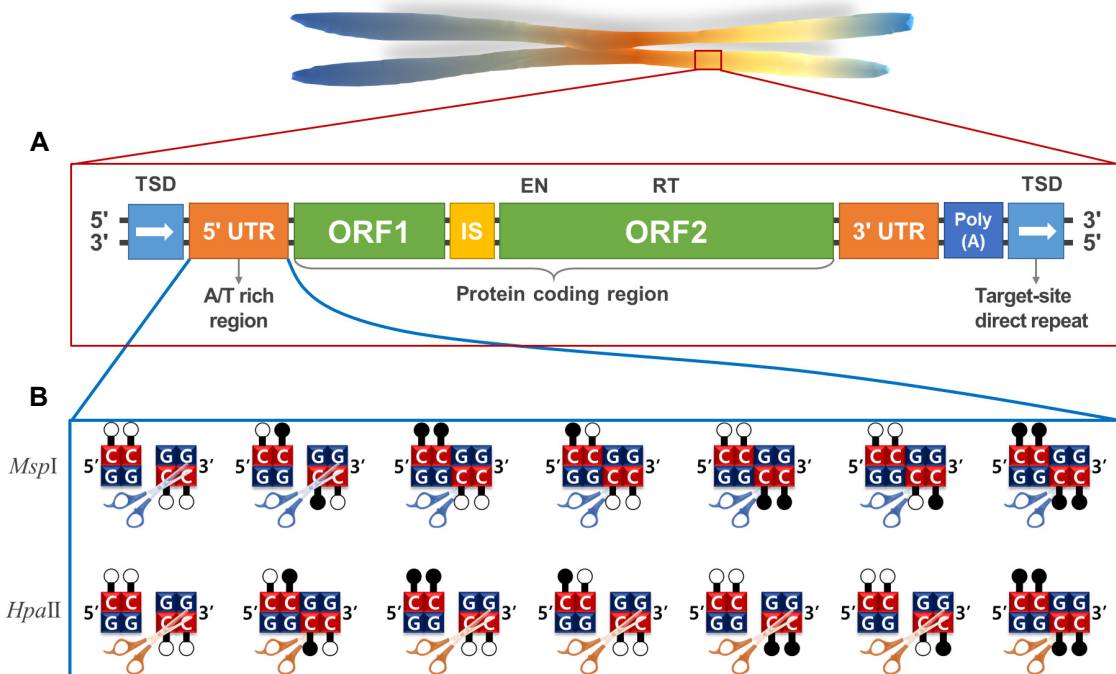


Fig. 1. (A) The structure of LINE-1. LINE-1 have two ORFs, and an ORF2 harbors endonuclease (EN), and reverse transcriptase (RT). In each flanking region, target site duplication sequences were detected. Each LTR sequences have bidirectional promoter activity. (B) The recognition sequence of isoschizomers based on DNA methylation patterns. *MspI* and *HpaII* recognize non-methylated CCGG sequence, but only *MspI* recognizes methylated CG sequences. Only *HpaII* can be sensitive to single-strand methylated sequence. Both *MspI* and *HpaII* cannot recognize methylated CCGG sequences. We modified the figure in previous study [32].

Table 1. Transposable elements and their roles in colon cancer

| Transposable elements | Related genes | Mechanisms | References |
|-----------------------|--|--|--------------------------|
| LINE-1 | <i>MET</i> | Hypomethylation, alternative promotor | [9] |
| | <i>APC</i> | Insertion | [22] |
| | <i>TFPI-2</i> | Antisense promotor | [5] |
| <i>Alu</i> | - | Hypomethylation | [31] |
| | Mismatch repair gene <i>BMPRI1A</i> | Recombination, deletion, insertion, rearrangement duplication | [13, 16, 21, 25] [46] |
| LTR12C | <i>CHM</i> | Insertion, exonization | [11] |
| HERV-H | - | Up-regulation | [18, 29] |

두가지 제한효소를 처리하고 서던블롯을 해본 결과 *MspI*의 경우 종양 조직과 인근 정상 조직 둘 다 DNA 조각들이 많이 관찰되었지만, *HpaII*의 경우는 두 번째와 상보적인 세 번째 사이토신의 메틸레이션이 모두 풀린 경우에만 자를 수 있기 때문에, DNA 조각들이 많이 관찰되지 않은 바, 종양조직에서 저메틸 현상이 나타남을 확인할 수 있다[6]. 이를 통해 환자의 종양조직의 LINE-1에서 저메틸화가 일어났고, 그 중 일부는 인근 정상 조직에서 또한 LINE-1에 대한 저메틸화가 나타남을 알 수 있었다. 이러한 결과를 통하여, 종양조직이 정상조직에 까지 영향을 준 것으로 보인다[35]. 정상인과, 결장정상점막의 LINE-1 저메틸화 현상이 나타난 환자와 나타나지 않은 환자 세 군의 총 CpG island의 메틸화 정도를 비교 해 보면, 암이 진행될수록 CpG island의 메틸화 정도가 낮아지는 것을 확인할 수 있었다[35]. 실제 LINE-1 유래 안티센스 프로모터의 메틸화에 의해 전이억제 유전자로 알려진 *TFPI-2* 유전자의 발현이 조절된다는 보고가 있었다[5]. 이러한 유전자들의 LINE-1 유래 프로모터에 대한 후성유전학적 양상을 분석함으로써, 대장암 진단 및 예후 분석 마커로 활용될 수 있을 것으로 기대된다(Table 1).

결론적으로, 이러한 LINE-1의 저메틸화는 암의 발생과 진행, 그리고 전이에 영향을 준다. 대표적으로 LINE-1의 저메틸화는 1) LINE-1이 주변의 원발암유전자 또는 발암유전자를 활성화시키거나[9], 2) 암억제 또는 전이 억제 유전자의 발현을 억제하는 등의 결과를 초래한다[5]. 따라서 LINE-1의 저메틸화는 대장암의 나쁜 예후를 진단하는 마커로 활용될 수 있다. 또한, LINE-1의 저메틸화는 대장암환자의 생존율과도 연관이 있으며, LINE-1 저메틸화가 심할수록 대장암 환자의 생존율이 낮다는 것이 보고되고 있다[38, 47].

APC유전자 내 LINE-1 삽입과 대장암

LINE-1 유전자가 대장암에 영향을 미치는 또 다른 예로는 APC 유전자 내로의 삽입 현상을 들 수 있다. APC 유전자는 5번 상염색체에 존재하는 유전자로서, APC 단백질을 번역하는 역할을 한다. APC 단백질은 세포 부착과 관련하여, be-

ta-catenin의 농도와 E-cadherin과의 상호작용을 조절한다[7]. 대장암 세포에서 이형 접합성 결실(loss of heterozygosity, LOH) 이외에도 많은 체세포 돌연변이가 일어난 APC 유전자가 발견된다. 또한 APC 유전자 내에 10%도 안 되는 coding region인 MCR (mutation cluster region)이라는 15번 엑손(exon) 내의 작은 영역에서 체세포 돌연변이의 60% 이상이 집중되는 것이 보고되고 있다[24]. 이러한 데이터들을 종합해 보았을 때 대장암의 80% 이상이 적어도 한 개 이상의 APC 유전자 돌연변이를 가지고 있고 그중에서도 60% 이상이 두 개 이상의 돌연변이를 가진다는 결과를 도출할 수 있다[24]. 이러한 결과들은 APC 유전자의 돌연변이가 대장암의 진행과 연관이 있다는 것을 보여준다.

가족성 대장폴립증에서 LINE-1의 유전체 내 삽입 현상이 대장암에 영향을 미치는 것을 알 수 있다. 가족성 대장폴립증 또는 가족성 대장용종증(Familial Adenomatous Polyposis, FAP)은 상염색체 우성의 유전질환으로 아동기 및 청소년기 동안에 수백, 수천 개의 전암성 폴립들이 대장 및 직장 전체에 걸쳐서 발생한다[4]. 이러한 전암성 폴립들은 후에 대장암으로 발전하며, 대장암 안에서는 APC 유전자의 체세포 돌연변이가 발견된다. APC 유전자는 이동성 유전인자와 관련하여, 가족성 대장폴립증의 종양억제인자로 고려되고 있다. 이에, APC 유전자의 끝부분의 엑손에 LINE-1 서열이 삽입됨으로써, APC 유전자가 정상적으로 발현되는 것을 방해하여 대장암으로 발전되는 것으로 보인다[22].

정상 조직과 대장암 조직 유래 DNA에 대하여 제한효소로 처리하여 전기영동을 하여 검출되는 밴드 양상을 비교해 보면, 정상 조직에서는 보이지 않던 밴드 조각들이 대장암 조직에서 검출되는 것을 확인할 수 있다. 이러한 밴드 조각들은 정상 조직보다 약 750 bp 많으며 이를 통해 대장암에서 APC 유전자 내에 특정 서열이 약 750 bp 삽입되었다는 것을 알 수 있다[22]. 이는, LINE-1에 의한 APC 유전자 내 특정 서열의 삽입으로 인하여, 대장암에 영향을 미치는 하나의 예를 보여 주고 있다(Table 1). 삽입된 서열을 분석 해 보면, 삽입된 서열의 1/5은 LINE-1 서열이 역방향으로 들어갔다는 것으로 확인

되었고, 가운데 부분은 LINE-1 공통 서열의 3' 말단 부분의 일부와 매우 유사하다. 또한 삽입된 서열의 마지막 1/5 부분은 LINE-1을 이루는 인자 중 하나인 polyadenylation 신호 서열인 180 bp로 구성되어 있다(Fig. 1A). 이를 통해 삽입된 유전자 서열은 LINE-1으로부터 유래한 것을 확인할 수 있다. 여기서 특이한 점으로써, 삽입된 LINE-1 서열은 다른 이동성 유전인과 달리 반복되는 서열이 없고 3' 끝에 polyadenylation 신호 서열로 시작되는 A-rich region을 가진다는 것인데, 이를 통하여 유전자 발현에 있어서 조기 종결을 유도할 수 있다[22]. 이러한 내용들로 미루어 보았을 때 LINE-1 유전자, 즉 이동성 유전인은 다른 유전자 내에 삽입됨으로써, 대장암의 발병에 영향을 준다고 말할 수 있다.

암 질환과 Alu인자와의 상관관계

Alu는 retrotransposon의 한 종류인 SINE (Short Interspersed Nuclear Element)에 속하는 이동성 유전인자이며[3], Alu의 유전체 내 모식도는 Fig. 2A와 같다. 중심의 A-rich 영역을 기준으로 7SLRNA로부터 각각 유래한 왼쪽 단위체와 오른쪽 단위체로 나뉘는 이합체이며, 그 길이가 100~400 bp로 짧다[1]. 그리고 Alu는 여러 개의 소단위체들로 나뉘며, 이들을 진화적인 시간에 따라 크게 3가지 그룹으로 묶는다[45]. 가장 오래된 subfamily가 AluJ subfamily이고 여기에서 duplication을 통해 진화된 것이 AluS subfamily이며, 그 후에 AluS subfamily에서 진화된 것이 AluY subfamily이다[45]. 이들의 카피 수는 AluS subfamily가 가장 많고, 그 다음이 AluY, AluJ

순이다(Fig. 2B). 이러한 Alu는 인간유전체에 100만 개 이상의 복사본이 존재하며, 이는 인간 유전체의 약 10.6%를 차지하는 양으로 인간 유전체 내 존재하는 이동성 유전인자들 중에서는 LINE-1 다음으로 가장 많은 부분을 차지한다고 할 수 있다[12]. 인간 유전체 내 Alu의 메틸화 상태 변화나 재배열 등의 변이들은 암을 포함한 여러 질병들과 연관성이 있다[31, 34].

Alu인자의 메틸화 현상

인간 유전체에서 Alu family에 따른 Sma I 인식서열 (CCCGGG)의 존재비율에 대해 조사했을 때, AluY는 42%, AluS는 18%, AluJ는 5% 정도로[31], 오래된 그룹일수록 Sma I 인식서열이 존재하는 비율이 감소되는 양상을 보였다(Fig. 2C). 반면에 각 subfamily별 CpG island의 탈메틸화 비율을 조사했을 때는 AluY가 1.65%, AluS가 3.1%, AluJ가 12%로, 가장 최근 그룹(AluY)에서 탈메틸화된 Alu의 비율이 낮고 오래된 그룹(AluJ)일수록 비메틸화된 Alu의 비율이 높아지는 것을 볼 수 있었다[31]. 이는 오래된 Alu subfamily에서 CpG sites에 편중된 C→T transition이 더 많이 일어났기 때문인 것으로 추측된다[45]. 즉, 오래된 Alu 그룹일수록 오랜 기간동안 C→T transition이 더 많이 일어나게 되며, 이러한 transition은 non-CpG sites보다 CpG sites의 사이토신에서 많이 일어나기 때문에, CpG sites의 수가 감소하게 되었다는 것이다. 또한 C→T transition에서 메틸사이토신이 탈아미노 반응을 일으키면서 티민이 되는 것이므로, 이러한 돌연변이가 축적됨에 따라 오래된 Alu subfamily에서는 메틸화되지 않은 사이토신만 남게

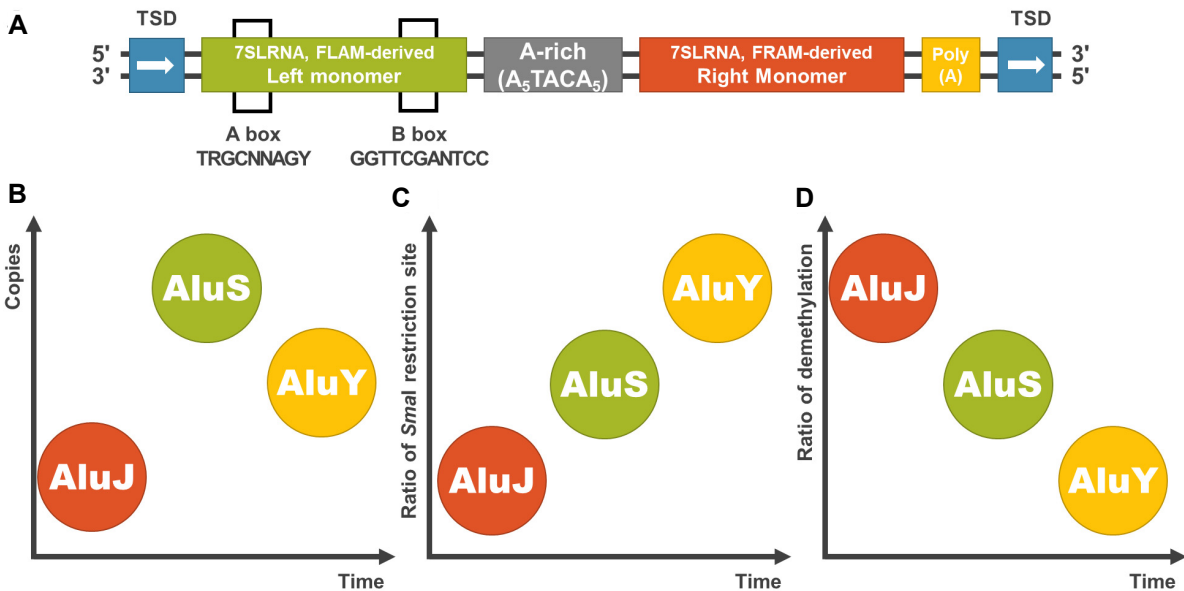


Fig. 2. (A) The structure of a consensus Alu element. Alu elements had been derived from 7SLRNA, which makes free left Alu monomer (FLAM) and free right Alu monomer (FRAM). FLAM-derived left monomer has A box and B box, and target site duplication (TSD) were located in each flanking regions. (B) AluY elements are youngest, and AluS elements are most frequently detected in human genome. (C) SmaI restriction site is more detected in younger family. (D) Younger Alu family is more methylated.

되면서 메틸화 비율이 감소하게 되었다(Fig. 2D).

대장암세포에서 LINE-1의 저메틸화가 특징적으로 나타나는 것과 마찬가지로, *Alu*의 저메틸화와 과메틸화도 특이적으로 발견되고 있다[31]. CpG island의 메틸화 양상을 확인하는 방법으로 각각 18개의 대장암 샘플과 정상 샘플의 메틸화되지 않은 *Alu* 양을 측정했을 때, 대장암 조직에서는 메틸화되지 않은 *Alu*가 평균적으로 반수체 당 $41,995 \pm 17,187$ 개, 정상 대장암 조직에서는 $25,486 \pm 10,157$ 개로 종양 샘플에서 메틸화되지 않은 *Alu*의 양이 더 많은 것으로 보고되었다[31]. 이렇게 대장암세포에서 메틸화되지 않은 *Alu*의 양이 1.5배 이상 많은 것으로 보아, 대장암 진행과정에서 *Alu*의 저메틸화 과정이 일어난다는 것을 알 수 있으며(Table 1), 종양이 형성될 때 *Alu*가 저메틸화되어 있는 환경을 선호한다는 것을 짐작할 수 있다[31].

*Alu*에 의한 유전자 돌연변이와 유전성 비용종증 대장암

불일치 수선(mismatch repair)과 관련된 효소를 암호화하는 유전자들에 해독틀이동(frameshift)이 발생함에 따라 종양이 형성될 수 있다[30]. 그 중 대표적인 예가 *MLH1* 유전자와 *MSH2* 유전자에 삽입 또는 결실이 일어나는 경우이다. *MLH1*, *MSH2* 단백질은 *MSH6* (또는 *MSH3*), *PCNA* (proliferating cell nuclear antigen), *EXO1* (exonuclease 1), *PMS2*, *MLH3*와 함께 복합체를 형성하여 DNA복제 과정 중 잘못 연결된 염기를 교정한다[40]. 그런데 *MLH1* 또는 *MSH2* 유전자에서 삽입이나 결실이 발생하면 유전체 불안정성이 증가하게 되어 유전성 비용종증 대장암(가족성 대장암 또는 HNPCC)의 발생률이 높아진다[30].

*MLH1*의 돌연변이는 여러 가지 이동성 유전인자에 의해 발생하는데, 특히 *Alu*에 의해 발생한다. 50세 전에 대장암이 발생한 가족성 대장암 환자가 있는 17 가족의 생식세포 계열 속 불일치 수선(mismatch repair)유전자를 조사한 결과, 다섯 가족에게서 *Alu* 재조합에 의한 *MLH1* 유전자의 돌연변이가 발견되었다[21]. 특히, 이들 중 한 가족에게서는 *MLH1* 유전자에서 22.4kb에 이르는 결실이 발생된 것을 볼 수 있었다. 그에 해당되는 부분에 대하여 시퀀싱 분석을 수행한 결과, 13번째 엑손부터 16번째 엑손까지의 영역이 결실되었음을 알 수 있었다[21]. 또한, 결실에 의해 일부가 잘려나간 12번째, 16번째 인트론 영역에 각각 왼쪽 단위체와 오른쪽 단위체가 남아 있었다[27]. 이를 통해, 위의 결실이 *MLH1*의 12번째 인트론과 16번째 인트론에 존재하는 *Alu* 반복 서열들의 재조합에 의해 발생하였다는 것을 알 수 있다[21].

*MLH1*뿐만 아니라 *MSH2*도 *Alu*에 의한 돌연변이가 일어난다. 가족성 대장암이 발생한 독일의 한 가계에서 생식세포 계열의 유전체를 분석한 결과, *MSH2*에서 점돌연변이를 포함한 크고 작은 삽입, 결실들이 일어난 것이 발견되었다[13]. 또한, 이들 중 한 여성 HNPCC환자와 그녀의 한 아들에게서 *MSH2*

의 4번째 엑손에 *Alu*가 삽입된 것을 볼 수 있었다[13].

유전성 비용종증 대장암이 발생하는 일가족에게서 불일치 수선(mismatch repair)유전자들의 *Alu* 관련 돌연변이가 흔히 관찰되고 있다[13, 16, 21, 30]. 또한 이들은 대부분 생식세포 계열에 발생하기 때문에 다음 자손에게 그대로 전달이 될 확률이 높으며[13, 21], 이로 인해 그 자손에게서 HNPCC가 발생할 확률 또한 높아진다. 이러한 특성으로 인해 *Alu*에 의한 불일치 수선(mismatch repair)유전자들의 돌연변이를 유전성 비용종증 대장암의 발생 예측의 척도로 삼을 수 있다.

*Alu*는 대장암 발생을 예측하는 마커로 사용될 수 있지만, 대장암 치료에서도 약물 처방을 위한 마커로 활용될 수 있다. 특히, *AluY*는 대장암에서 암치료제의 한 종류인 SN38 (Irinotecan)과 Oxaliplatin 저항성을 증가시키는 역할을 한다[19]. 따라서 유전체 내 *AluY*의 수는 특정 항암제 저항성을 나타내는 바이오마커로 활용될 수 있고, 더 나아가 개인 맞춤형 약물 처방의 근거로 활용될 수 있다.

유전자 발현에 영향을 미치는 LTR

이동성 유전인자 중 retrotransposon은 전사 후 역전사 과정을 거치고, 복사 후 유전체 내에 끼어 들어감으로써 복제된다. 이들은 DNA transposon과 구별되며, 그들이 복제될 때 역전사 효소를 필요로 하며, 앞서 알아보았던 LINE-1, *Alu*와 더불어 곧 알아볼 LTR (long terminal repeat)이 포함된다[15]. LTR은 프로모터, 인핸서, polyadenylation 신호, alternative splicing 신호 서열을 포함하는 다양한 전사조절 요소를 포함하고 있어, 인근에 위치한 유전자의 발현에 강한 영향을 미친다[11, 36].

CHM은 X 염색체에 위치한 유전자이다[41]. CHM 유전자는 isoform a와 b 전사체를 가질 수 있고 isoform b의 경우에는 4번째 인트론에서 스플라이싱 위치를 제공하는 AG 염기서열이 LTR12C 내에 포함되어 있다(Fig. 3). 인트론의 염기서열은 GT로 시작하고 AG로 끝나기 때문에 여기서 LTR12C의 AG는 인트론으로, 그 이후의 부분은 새로운 엑손으로 인식된다. 즉, 새로운 엑손이 RSTLLL인 6개의 아미노산 잔기로 번역되고 LTR12C 내에 있는 TGA 서열이 새로운 종결코돈으로써 인식된다[11]. 이와 같이 LTR retrotransposon들과 같은 많은 반복 서열은 인트론에 삽입되어 새로운 스플라이싱 위치를 제공할 수 있고 그중 LTR12C 서열은 선택적 스플라이싱과 아미노산 사슬의 조기 종결을 유도한다[2, 11].

일부 변이된 전사체들은 정상 조직과 암 조직에서 다른 발현 양상을 보여주는데, 이는 암 조직에서 특이적으로 발현되는 양상을 보이기 때문에 바이오마커로 적용되기에 충분하다[11, 39]. 실제로, 암 조직에서 CHM isoform b의 발현수준은 정상조직보다 높다[11]. 정상세포주와 대장암세포주(HT29, COLO205, HCT116)를 이용해 수행한 결과에서도, 암세포주에서 CHM isoform b 전사체의 높은 발현 수준을 확인할 수

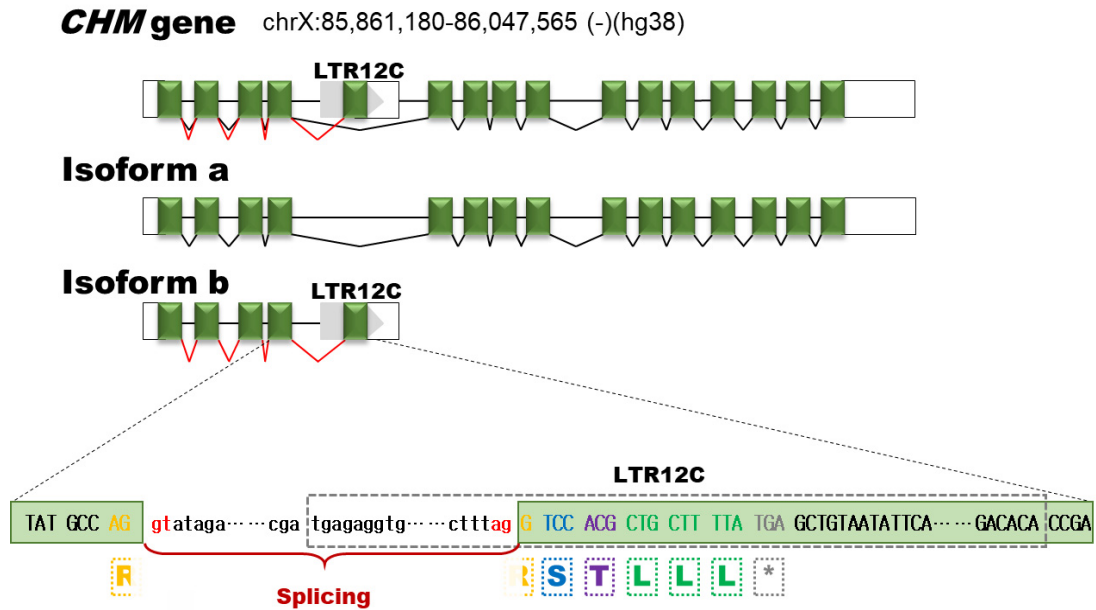


Fig. 3. Structure of the CHM isoform b and the loci of LTR12C (Modified in [11]). The insertion of LTR12C induces alternative splicing, because splicing donor site (AG) is located on LTR12C. The LTR12C-derived sequence contains the six-added amino acid residues (RSTLLL), and the new stop codon (TGA).

있다. 또한, 3명의 한국인 대장암 환자의 조직 샘플을 이용하여 CHM isoform b이 인접한 정상 조직보다 대장 종양에서 더 높게 발현한다는 것을 알 수 있다[11].

지금까지 유전자의 선택적 스플라이싱 결과 나타난 변이체들이 암이나 기타 질병의 바이오마커로 사용될 수 있다는 것이 잘 알려져 있고, 이미 많은 수가 바이오마커로써 활용되고 있다. 따라서 암 진행 또는 암의 검출을 위하여 선택적 스플라이싱 양상을 정확히 파악하는 것은 매우 중요한 문제이다[11]. 선택적 스플라이싱으로부터 생성된 CHM isoform b 전사체는 대장 종양의 조직과 세포주에서 높게 발현된다. 결과적으로 CHM isoform b의 LTR12C의 삽입으로 인해 선택적 스플라이싱이 유도되고, 이에 의한 특이적 전사체의 발현 양상은 대장암을 진단하는 바이오마커로 사용될 수 있음을 시사한다[11].

HERV-H의 과발현과 대장암

HERV (Human Endogenous Retrovirus)는 인간 유전체의 8%를 차지하는 이동성 유전인자로 LTR retrotransposon의 한 종류이다. 이러한 HERVs는 유방암, 전립선암, 폐암, 난소암, 흑색종 등 여러 가지 암에서 과발현된다고 알려져 있다[33]. 종양에서 주로 상향조절 되어 있는 HERV family에는 HERV-H, HERV-K, HERV-E가 있으며, 대장암에서는 HERV-H가 주로 상향조절되어 있는 것을 볼 수 있다[33]. 여기서 특이한 점은 대장암에서 과발현되는 HERV-H 전사체 대부분에게서 HERV 내의 *env* 유전자가 결실되어 있다는 점이다[17, 18]. 게다가 *env* 유전자가 결실된 HERV-H와 *env*가 온전한 HERV-H의 대장암 샘플에서의 발현율을 조사했을 때, HERV-H가 다

른 것에 비해 발현율이 현저히 높다는 것을 볼 수 있다[17].

정상 조직에 비해 대장암 조직에서 HERV-H가 더 많이 발현되는 것을 볼 수 있다(Table 1). 이러한 발현 차이는 대장암 조직과 대장암이 전이된 암 사이에서도 볼 수 있는데, 전이가 일어나지 않은 대장암과 대장에서 간으로의 전이가 일어난 암의 HERV-H 발현을 조사한 결과, HERV-H의 발현율이 전이된 암에서 비교적 높은 것을 볼 수 있었다[29]. 그리고 대장암 환자의 샘플 중에서 암세포가 림프절로 침투했는지 여부에 따라 HERV-H의 발현이 차이가 났는데, 암세포가 림프절에 침투한 경우에서 더 높은 HERV-H 발현율을 볼 수 있었다[29]. 따라서 HERV-H의 과발현은 대장암 진단뿐만 아니라 대장암의 나쁜 예후를 진단하는 데 활용될 수 있음을 시사한다.

세포 내 유전자의 발현을 방해하는 이동성 유전인자의 탈메틸화

인간 유전체의 반 정도는 LINE-1과 *Alu*를 비롯한 SINE 반복서열, 그리고 HERV를 비롯한 LTR과 같은 이동성 유전인자들로 이루어져 있다[14]. 정상 체세포에서 이러한 요소들의 대부분은 억제되고 과메틸화 되어 있다. 대조적으로, 유전체의 훨씬 적은 부분인 세포 내 유전자들은 그들의 조절영역에서 메틸화되지 않은 상태로 존재한다[35]. 하지만 암이 진행될수록 이동성 유전인자에서 저메틸화가 일어나고, 이동성 유전인자 내의 저메틸화는 결국 인접한 세포 유전자의 발현양상을 비정상적으로 유도한다(Fig. 4). 이로 인하여, 세포생존 및 암 억제와 관련된 유전자들이 제대로 기능하지 못하게 되고, 암 유발 유전자들의 활성이 강화되게 된다. 뿐만 아니라, 이동성

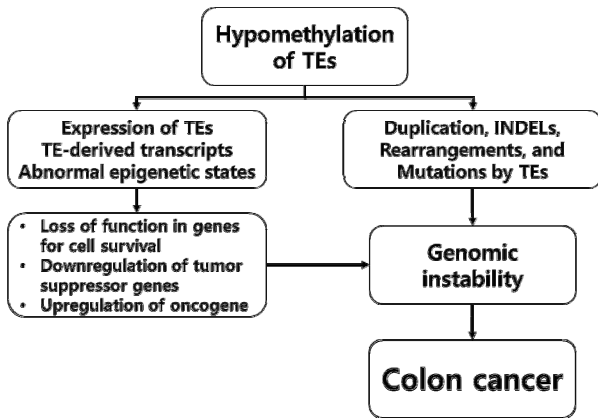


Fig. 4. The effect of transposable elements (TEs) in the colon cancer development. The hypomethylation in TEs, as well as TE-derived genomic rearrangement can induce the genomic instability. Abnormal DNA methylation state, such as hypomethylation of TEs can induce the expression of TE-derived transcripts. It makes the changes of gene expression related to cancer, and mutation in protein coding region, or promoter.

유전인자의 저메틸화로 인한 활성화로 인하여, 다양한 유전체 불안정성이 유도된다. 특히, 이동성 유전인자에 의한 INDEL (Insertion and deletion), 유전체 재배열 및 돌연변이 등을 들 수 있으며, 이들은 결국 유전체 불안정성을 유도하게 된다. 앞으로 이동성 유전인자의 다양한 질병에서의 기능 및 유전체에 미치는 영향을 연구함으로써, 질병의 진단 및 치료에 도움이 되는 다양한 단서가 제공될 것으로 기대된다.

이동성 유전인자와 관련된 대장암 발병 유전자의 발현양상

지금까지 이동성 유전인자와 관련된 대장암 발병 기작을, 각 이동성 유전인자의 종류별로 알아보았다. 그 중 대장암 발병에 핵심적인 역할을 하는 유전자들의 조직별 발현 양상을 *in silico* 분석을 다양한 조직에서 성별로 확인함으로써, 바이오마커로서의 활용 가능성을 시사하고자 한다.

APC 유전자의 돌연변이에 의해 대장암이 진행된다는 것이 알려져 있고, LINE-1에 의해 비정상적인 발현이 유도된다는 것이 확인되었다. 이러한 APC의 경우 흥미롭게도, 뇌에서 많은 발현을 보였고, 상대적으로 간과 이자에서 저발현됨을 확인할 수 있었다(Fig. 4A). 비록 APC 유전자가 대장암에서 많이 연구되었지만, 뇌 또는 신경전달과 관련된 연구에서도 좋은 단서를 제공해 줄 것으로 기대된다.

MLH1, MSH2 유전자에 Alu에 의한 돌연변이가 일어나는 경우 역시, 대장암의 원인이 된다. 이들 유전자에 대해서도 성별, 조직별 발현을 확인하였다(Fig. 4B, Fig. 4C). 이들 두 유전자는, 비장에서의 과발현 양상 등 비슷한 패턴의 발현 양상을 보여 주는 조직도 있었다. 그리고, MLH1의 경우 뇌 조직에서 저발현을 보임에 비하여, MSH2의 경우 과발현을 보여 주었다. 이들 유전자들의 Alu에 의한 영향을 다양한 조직에서 확인할 필요가 있을 것으로 생각된다.

LTR 서열의 삽입에 따라 CHM 유전자에 선택적 스플라이싱이 일어나고, 다양한 전사체가 발현됨을 확인하였다. CHM의 경우 간과 심장에서 저발현됨을 확인할 수 있었고, 전반적으로 조직별 비슷한 발현 양상을 보여 주었다. 뇌에서 상대적으로 과발현을 보여 주었음에 비하여, 소화기와 관련된 기관

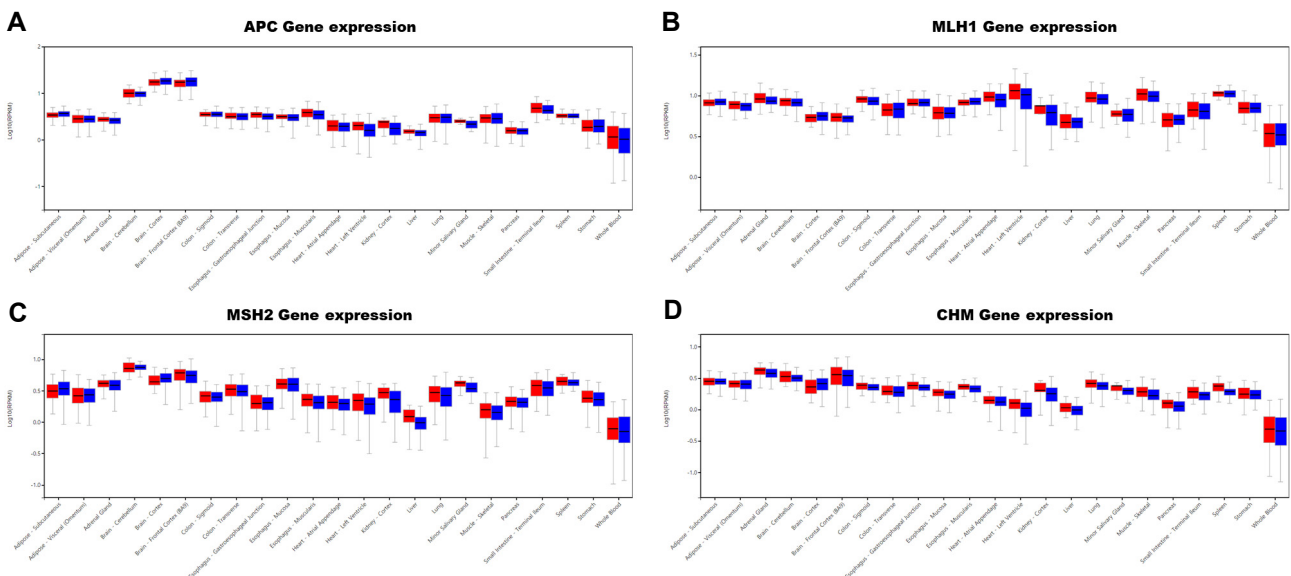


Fig. 5. *In silico* expression analysis in four genes related to colon cancer. APC, MLH1, MSH2, and CHM are related to colon cancer development. These genes is similar expression patterns between male and female, but APC gene is higher expression patterns in brain tissue. MSH2 gene is lower expressed in liver and muscle, whereas higher expression patterns were detected in small intestine. These genes are lowest expression patterns were detected in whole blood.

의 조직에서는 저발현됨을 보여주었다(Fig. 4D).

이동성 유전인자가 영향을 미치는 유전자들의 발현을 *in silico* 발현 분석을 통하여 분석하였으며, 조직별, 성별 특이적 발현 양상을 제시하였다. 이에 의하여 암의 발생, 전이 및 침윤 등과 같은 이벤트가 가속화된다고 볼 수 있으며, 이러한 유전자들은 다양한 암의 진단 및 예후 확인을 위한 마커로써 활용될 수 있을 것이라 기대된다[35].

결론

본 논문에서는, 이동성 유전인자가 대장암과 관련된 유전자의 발현과 후성유전학적 조절 및 유전자 재배열에 관여함으로써 대장암의 발병에 영향을 주는 연구들에 대해 논의하였다. 이동성 유전인자 중 하나인 LINE-1의 경우 저메틸화 및 대장암 관련 유전자 내로의 삽입, *Alu*의 저메틸화와 과메틸화, 그리고 LTR 삽입에 따른 isoform 발생 등이 대장암 발병과 관련이 있음을 것을 확인하였다. 이러한 연구 결과들을 추가 검증 등을 통한 고도화를 수행하여, 보다 신뢰성 있는 대장암 바이오마커들을 발굴할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었으므로 이에 감사를 드립니다.

References

- Batzer, M. A. and Deininger, P. L. 2002. Alu repeats and human genomic diversity. *Nat. Rev. Genet.* **3**, 370-379.
- Boxus, M. and Willems, L. 2009. Mechanisms of HTLV-1 persistence and transformation. *Br. J. Cancer* **101**, 1497-1501.
- Chénais, B. 2013. Transposable elements and human cancer: a causal relationship? *Biochim. Biophys. Acta-Rev. Cancer* **1835**, 28-35.
- Chen, J. M., Stenson, P. D., Cooper, D. N. and Férec, C. 2005. A systematic analysis of LINE-1 endonuclease-dependent retrotranspositional events causing human genetic disease. *Hum. Genet.* **117**, 411-427.
- Cruickshanks, H. A., Vafadar-Isfahani, N., Dunican, D. S., Lee, A., Sproul, D., Lund, J. N., Meehan, R. R. and Tufarelli, C. 2013. Expression of a large LINE-1-driven antisense RNA is linked to epigenetic silencing of the metastasis suppressor gene TFPI-2 in cancer. *Nucleic Acids Res.* **41**, 6857-6869.
- Feinberg, A. P. and Vogelstein, B. 1983. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature* **301**, 89-92.
- Hülksen, J., Birchmeier, W. and Behrens, J. 1994. E-cadherin and APC compete for the interaction with beta-catenin and the cytoskeleton. *J. Cell Biol.* **127**, 2061-2069.
- Hedges, D. and Deininger, P. 2007. Inviting instability: Transposable elements, double-strand breaks, and the maintenance of genome integrity. *Mutat. Res.* **616**, 46-59.
- Hur, K., Cejas, P., Feliu, J., Moreno-Rubio, J., Burgos, E., Boland, C. R. and Goel, A. 2014. Hypomethylation of long interspersed nuclear element-1 (LINE-1) leads to activation of proto-oncogenes in human colorectal cancer metastasis. *Gut* **63**, 635-646.
- Jordan, I. K., Rogozin, I. B., Glazko, G. V. and Koonin, E. V. 2003. Origin of a substantial fraction of human regulatory sequences from transposable elements. *Trends Genet.* **19**, 68-72.
- Jung, Y. D., Huh, J. W., Kim, D. S., Kim, Y. J., Ahn, K., Ha, H. S., Lee, J. R., Yi, J. M., Moon, J. W. and Kim, T. O. 2011. Quantitative analysis of transcript variants of CHM gene containing LTR12C element in humans. *Gene* **489**, 1-5.
- Kazazian, H. H. 2004. Mobile elements: drivers of genome evolution. *Science* **303**, 1626-1632.
- Kloor, M., Sutter, C., Wentzensen, N., Cremer, F. W., Buckowitz, A., Keller, M., von Knebel Doeberitz, M. and Gebert, J. 2004. A large MSH2 Alu insertion mutation causes HNPCC in a German kindred. *Hum. Genet.* **115**, 432-438.
- Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J., Devon, K., Dewar, K., Doyle, M. and FitzHugh, W. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* **409**, 860-921.
- Lerat, E. and Sémon, M. 2007. Influence of the transposable element neighborhood on human gene expression in normal and tumor tissues. *Gene* **396**, 303-311.
- Li, L., McVety, S., Younan, R., Liang, P., Du Sart, D., Gordon, P. H., Hutter, P., Hogervorst, F. B., Chong, G. and Foulkes, W. D. 2006. Distinct patterns of germ line deletions in MLH1 and MSH2: the implication of Alu repetitive element in the genetic etiology of Lynch syndrome (HNPCC). *Hum. Mutat.* **27**, 388-388.
- Liang, Q., Ding, J., Xu, R., Xu, Z. and Zheng, S. 2009. Identification of a novel human endogenous retrovirus and promoter activity of its 5' U3. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **382**, 468-472.
- Liang, Q., Xu, Z., Xu, R., Wu, L. and Zheng, S. 2012. Expression patterns of non-coding spliced transcripts from human endogenous retrovirus HERV-H elements in colon cancer. *PLoS One* **7**, e29950.
- Lin, X., Stenvang, J., Rasmussen, M. H., Zhu, S., Jensen, N. F., Tarpgaard, L. S., Yang, G., Belling, K., Andersen, C. L. and Li, J. 2015. The potential role of Alu Y in the development of resistance to SN38 (Irinotecan) or oxaliplatin in colorectal cancer. *BMC Genomics* **16**, 404.
- Mätlik, K., Redik, K. and Speek, M. 2006. L1 antisense promoter drives tissue-specific transcription of human genes. *J. Biomed. Biotechnol.* **2006**, 71753.
- Mauillon, J. L., Michel, P., Limacher, J. M., Latouche, J. B., Dechelotte, P., Charbonnier, F., Martin, C., Moreau, V., Metayer, J. and Paillot, B. 1996. Identification of novel germline hMLH1 mutations including a 22 kb Alu-mediated deletion in patients with familial colorectal cancer. *Cancer Res.* **56**, 5728-5733.
- Miki, Y., Nishisho, I., Horii, A., Miyoshi, Y., Utsunomiya,

- J., Kinzler, K. W., Vogelstein, B. and Nakamura, Y. 1992. Disruption of the APC gene by a retrotransposal insertion of L1 sequence in a colon cancer. *Cancer Res.* **52**, 643-645.
23. Mills, R. E., Bennett, E. A., Iskow, R. C. and Devine, S. E. 2007. Which transposable elements are active in the human genome? *Trends Genet.* **23**, 183-191.
24. Mori, Y., Nagase, H., Ando, H., Horii, A., Ichii, S., Nakatsuru, S., Aoki, T., Miki, Y., Mori, T. and Nakamura, Y. 1992. Somatic mutations of the APC gene in colorectal tumors: mutation cluster region in the APC gene. *Hum. Mol. Genet.* **1**, 229-233.
25. Moussa, S. A. B., Moussa, A., Lovecchio, T., Kourda, N., Najjar, T., Jilani, S. B., El Gaaied, A., Porchet, N., Manai, M. and Buisine, M. P. 2009. Identification and characterization of a novel MLH1 genomic rearrangement as the cause of HNPCC in a Tunisian family: evidence for a homologous Alu-mediated recombination. *Fam. Cancer* **8**, 119-126.
26. National Cancer Center. 2014. Annual report of cancer statistics in Korea in 2013. *Goyang, Korea: National Cancer Center.*
27. Nyström-Lahti, M., Kristo, P., Nicolaides, N. C., Chang, S. Y., Aaltonen, L. A., Moisio, A. L., Järvinen, H. J., Mecklin, J. P., Kinzler, K. W. and Vogelstein, B. 1995. Founding mutations and Alu-mediated recombination in hereditary colon cancer. *Nat. Med.* **1**, 1203-1206.
28. Ostertag, E. M. and Kazazian Jr, H. H. 2001. Biology of mammalian L1 retrotransposons. *Annu. Rev. Genet.* **35**, 501-538.
29. Pérot, P., Mullins, C. S., Naville, M., Bressan, C., Hühns, M., Gock, M., Kühn, F., Volff, J. N., Trillet-Lenoir, V. and Linnebacher, M. 2015. Expression of young HERV-H loci in the course of colorectal carcinoma and correlation with molecular subtypes. *Oncotarget* **6**, 40095.
30. Peltomäki, P. 2003. Role of DNA mismatch repair defects in the pathogenesis of human cancer. *J. Clin. Oncol.* **21**, 1174-1179.
31. Rodriguez, J., Vives, L., Jorda, M., Morales, C., Munoz, M., Vendrell, E. and Peinado, M. A. 2008. Genome-wide tracking of unmethylated DNA Alu repeats in normal and cancer cells. *Nucleic Acids Res.* **36**, 770-784.
32. Salmon, A., Clotault, J., Jenczewski, E., Chable, V. and Manzaneres-Dauleux, M. J. 2008. Brassica oleracea displays a high level of DNA methylation polymorphism. *Plant Sci.* **174**, 61-70.
33. Signorini, L., Villani, S., Bregni, M., Ferrante, P. and Delbue, S. 2016. Do the human endogenous retroviruses play a role in colon cancer? *Adv. Tumor Virol.* **6**, 11.
34. Slotkin, R. K. and Martienssen, R. 2007. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nat. Rev. Genet.* **8**, 272-285.
35. Suter, C. M., Martin, D. I. and Ward, R. L. 2004. Hypomethylation of L1 retrotransposons in colorectal cancer and adjacent normal tissue. *Int. J. Colorectal Dis.* **19**, 95-101.
36. Sverdlov, E. D. 2000. Retroviruses and primate evolution. *Bioessays* **22**, 161-171.
37. Swergold, G. D. 1990. Identification, characterization, and cell specificity of a human LINE-1 promoter. *Mol. Cell. Biol.* **10**, 6718-6729.
38. Swets, M., Zaalberg, A., Boot, A., Van Wezel, T., Frouws, M. A., Bastiaannet, E., Gelderblom, H., Van De Velde, C. J. and Kuppen, P. J. 2016. Tumor LINE-1 methylation level in association with survival of patients with stage II colon cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, 36.
39. Thorsen, K., Sørensen, K. D., Brems-Eskildsen, A. S., Modin, C., Gaustadnes, M., Hein, A. M. K., Kruhøffer, M., Laurberg, S., Borre, M. and Wang, K. 2008. Alternative splicing in colon, bladder, and prostate cancer identified by exon array analysis. *Mol. Cell. Proteomics* **7**, 1214-1224.
40. Umar, A., Buermeyer, A. B., Simon, J. A., Thomas, D. C., Clark, A. B., Liskay, R. M. and Kunkel, T. A. 1996. Requirement for PCNA in DNA mismatch repair at a step preceding DNA resynthesis. *Cell* **87**, 65-73.
41. van den Hurk, J. A., van de Pol, D. J., Wissinger, B., van Driel, M. A., Hoefsloot, L. H., de Wijs, I. J., van den Born, L. I., Heckenlively, J. R., Brunner, H. G. and Zrenner, E. 2003. Novel types of mutation in the choroideremia (CHM) gene: a full-length L1 insertion and an intronic mutation activating a cryptic exon. *Hum. Genet.* **113**, 268-275.
42. Wolff, E. M., Byun, H. M., Han, H. F., Sharma, S., Nichols, P. W., Siegmund, K. D., Yang, A. S., Jones, P. A. and Liang, G. 2010. Hypomethylation of a LINE-1 promoter activates an alternate transcript of the MET oncogene in bladders with cancer. *PLoS Genet.* **6**, e1000917.
43. Wong, J. J. L., Hawkins, N. J. and Ward, R. L. 2007. Colorectal cancer: a model for epigenetic tumorigenesis. *Gut* **56**, 140-148.
44. World Health Organization. 2014. GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. *Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.*
45. Xing, J., Hedges, D. J., Han, K., Wang, H., Cordaux, R. and Batzer, M. A. 2004. Alu element mutation spectra: molecular clocks and the effect of DNA methylation. *J. Mol. Biol.* **344**, 675-682.
46. Yamaguchi, J., Nagayama, S., Chino, A., Sakata, A., Yamamoto, N., Sato, Y., Ashihara, Y., Kita, M., Nomura, S. and Ishikawa, Y. 2014. Identification of coding exon 3 duplication in the BMPR1A gene in a patient with juvenile polyposis syndrome. *Jpn. J. Clin. Oncol.* **44**, 1004-1008.
47. Zhuo, C., Li, Q., Wu, Y., Li, Y., Nie, J., Li, D., Peng, J., Lian, P., Li, B. and Cai, G. 2015. LINE-1 hypomethylation in normal colon mucosa is associated with poor survival in Chinese patients with sporadic colon cancer. *Oncotarget* **6**, 23820.

초록 : 암 진단 분자 마커로서 이동성 유전인자의 응용

김혜민^{1*} · 김정인^{1,2,3*} · 우효정¹ · 홍정현¹ · 김진엽¹ · 김희수^{1,2*}

(¹부산대학교 자연과학대학 생명과학과, ²부산대학교 유전공학연구소, ³울산과학기술원 게놈연구소)

현재까지 다양한 암의 발병 원인이 밝혀졌는데, 그 중 하나로써 DNA에 돌연변이가 축적되어 유전체가 불안정해짐에 따라 암이 발생될 수 있는 기작들이 주목받고 있다. 생물정보학과 유전체학의 발달에 따라 질병 연구에 있어서 보다 더 정확하고 신뢰성 있는 바이오마커를 찾는 것이 가능해졌다. 따라서, 생물정보학과 유전체학의 연구 기반을 바탕으로 한 암의 바이오마커는 암의 조기진단뿐만 아니라, 더 나아가 암 발생 예측과 암환자의 예후 진단에 적용될 수 있다. 최근 들어 인간 유전체에서 약 45%를 차지하는 이동성 유전인자(transposable elements, TEs)가 유전자의 발현 조절과 DNA의 돌연변이를 유도함으로써 다양한 질병에 영향을 미친다는 사실이 밝혀짐에 따라, 이러한 이동성 유전인자들이 암의 발생과 어떤 연관이 있는지에 대한 연구 또한 활발히 진행되고 있다. 따라서 우리는 이동성 유전인자가 대장암과 어떤 연관성이 있는지에 대해 조사를 하였으며, 이를 어떻게 바이오마커로 활용할 수 있는지 알아보았다. 우선, 이동성 유전인자 중 인간 유전체에 많이 존재하면서 유전체에 많은 영향을 미치는 LINE-1 (long interspersed nuclear element-1, L1)과 *Alu*, LTR (long terminal repeat) 위주로 확인하였다. 흥미롭게도, 대장암 세포에서 LINE-1의 저메틸화, APC 유전자 내에 LINE-1 삽입, *Alu*의 저메틸화와 과메틸화, LTR 삽입에 따른 isoform 발생 등이 특징적으로 나타나는 것을 알 수 있었다. 또한 원발암유전자에서의 L1 저메틸화가 대장암 전이의 바이오마커로 쓰일 수 있다는 것과 *Alu*에 의한 MLH1 돌연변이가 가족성 및 유전성 대장암에서 흔히 발견된다는 것을 알 수 있었다. 이 때 이동성 유전인자에 의하여 영향 받는 유전자들의 발현을 *in silico* 발현 분석을 통하여 분석하였으며, 조직별, 성별 특이적 발현 양상을 제시하였다. 이들을 토대로 대장암 바이오마커를 개발하여 유전성 대장암의 예측 및 대장암 진단 또는 대장암 예후 예측을 통한 개인 맞춤형 치료에 활용할 수 있을 것으로 예상된다.