

기관고유연구사업 결과보고서

편집순서 1 : 결표지 (앞면)

(과제번호 :)

연구과제명 (국문)타목시펜 저항성을 보이는 인체 유방암에서
약 대사 유전자 메틸화 양상 검색

연구과제명 (영문)Methylation of genes related with drug
metabolizing enzymes in Tamoxifen resistance

과제책임자 : 강 한 성

국 립 암 셴 터

과
제
명

1. 이 보고서는 국립암센터 기관고유연구
사업 결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 인용할 때에는 반드시
국립암센터 연구사업 결과임을 밝혀야
합니다.

국
립
암
센
터

제 출 문

국립암센터 원장 귀하

이 보고서를 기관고유연구사업 “ 타목시펜 저항성을 보이는 인체 유방암에
서 약 대사 유전자 메틸화 양상 검색 ” 과제의 결과보고서로 제출합니다.

2007. .

국립암센터

과제책임자 : 강한성

연구원 : 황은혜

목 차

< 요약 문 >

(한글)	6
(영문)	8
1. 연구사업의 최종목표	9
2. 연구사업의 내용 및 결과	9
3. 연구결과 고찰 및 결론	17
4. 연구성과 및 목표달성도	18
5. 연구결과의 활용계획	21
6. 참고문헌	22
7. 첨부서류	23

< 요약 문 >

접수번호			과제번호	0510051-2	
과제명	타목시펜 저항성을 보이는 인체 유방암에서 약 대사 유전자 메틸화 양상 검색				
연구기간연구비	합계	2006년1월1일 ~2007년12월 31일		90,000	
	1차년도	2006년1월1일 ~2006년12월 31일		50,000	
	2차년도	2007년1월1일 ~2007년12월 31일		40,000	
과제책임자	성명	강한성		주민등록번호	
	전화번호	031-920-1642		전자우편	rorerr@ncc.re.kr
색인단어	국문	타목시펜, 저항성, CYP2D6, COMT, 메틸화, 유방암			
	영문	Tamoxifen, Resistance, CYP2D6, COMT, Methylation, Breast Cancer			

◆ 연구목표

<최종목표>

○ 인체 유방암에서 CYP2D6, COMT 유전자의 촉진자 부위의 메틸화 양상을 조사하고 각종 예후 인자와의 상관 여부를 규명하고자 함.

<당해연도목표>

○ 타목시펜 저항성과 CYP2D6, COMT, 유전자 촉진자부위의 메틸화와의 상관 관계를 밝혀내어, 타목시펜 저항성에 대한 또 하나의 기전으로서 CYP2D6와 COMT 유전자 메틸화가 관여하고 있다는 가설을 검증하고자 함.

◆ 연구내용 및 방법

○ 타목시펜 저항군(환자군)은 타목시펜 사용후 2년 이후에 재발된 환자로 정의하였고 총 30명의 대상 환자가 있었음. 타목시펜 저항성이 발생한 중앙 관찰기간은 2.8년이었음. 대조군은 환자군과 같은 연령을 가진 일차 유방암 환자를 대상으로 선택하였음.

○ 환자의 중앙에서 DNA 추출후 바이설파이트처리후 DNA 순열 검사를 실시함

○ 파라핀으로 보관된 환자의 조직에 대해 ER, PgR, p53, c-erbB2, Ki 67에 대한 면역조직화학 염색을 하여 발현 여부를 관찰함.

○ 바이설파이트 처리후 유전자 순열 검사상 COMT 유전자는 대조군에서 42예 (61.8%) 저항군 15예(50.0%)의 중앙에서 메틸화가 관찰됨. CYP2D6 유전자 메틸화는 대조군에서 39예(60.9%) 그리고 저항군에서 25예의 메틸화가 확인됨 (83.3%). 저항군은 대조군 해 CYP2D6 유전자 메틸화가 유의하게 증가되어 있었음(COMT, p=0.277; CYP2D6, p=0.013)(Table 2).

○CYP2D6의 평균 메틸화 밀도를 측정하면 저항군은 54.67±8.54(%) 대조군은 24.67±0.98(%)로 양군에서 평균 메틸화 정도의 차이가 통계적으로 유의함. 저항군은 대조군에 비해 COMT의 메틸화 정도는 차이가 없었음 (36.67±9.24 vs. 37.22±5.283, p=0.312) (Table3).

② 대조군과 저항군에서 다른 종양 표지가 발현 분석

○대조군과 저항군 종양에서 4가지 종양 표지자의 발현 양상을 분석함(PgR, c-erbB2, Ki67, p53). Ki67에 대한 평균 발현 빈도는 저항군에서 23%, 대조군에서 13%으로 대조군에서 유의하게 증가되어 있음. (p=0.035). 그러나 PgR (54.4% vs 40.0%, p=0.188), c-erbB2 (86.8% vs 83.3%, p=0.655)와 p53 (45.6% vs 53.3%, p=0.479) 양성률은 양군 사이에 유의한 차이가 발견되지 않음(Table 4).

○결론적으로 본 연구 결과 타목시펜 저항성과 CYP2D6 유전자의 CpG 메틸화 사이에 유의한 상관 관계가 있으며 타목시펜 저항성을 보이는 재발암은 대조군 암에 비해 조밀한 메틸화 경향을 보임. 이런 사실은 타목시펜 저항성 유방암 환자의 치료 과정에서 약제 선택에 도움이 될 수 있으리라 보임.

◆ 연구성과

<당해연도 성과>

-정량적 성과 : 논문 IF 1.57 점(SCI급 1 편)

-정성적 성과

◆ 참여연구원 (당해연도 참여인원)	성 명	강한성, 황은혜
	주민등록번호	

※ 요약문의 총분량은 2page 이내로 제한함

Project Summary

Title of Project	Methylation of genes related with drug metabolizing enzymes in Tamoxifen resistance
Key Words	Tamoxifen, Resistance, CYP2D6, COMT, Methylation, Breast Cancer
Project Leader	Han-Sung Kang
Associated Company	
<p>No reports have examined the association between tamoxifen resistance and the methylation of the CYP2D6 and COMT genes. Therefore we investigated the methylation patterns of the genes in the tamoxifen-resistant tumors. We used bisulfite genomic sequencing and reverse transcriptase PCR to determine the methylation patterns from control (n=68) and tamoxifen-resistant tissues (n=30) chosen by an age-matched sampling method. Bisulfite genomic sequencing allowed us to reveal the methylation of the CYP2D6 gene in 39 of the control tumors (60.9%) and in 25 tumors of the resistant group (83.3%). The methylation of COMT was observed in 42 control tumors (61.8%) and in 15 recurrent tumors (50.0%). The methylation rate of the CYP2D6 but not the COMT in the control group was significantly higher than in its counterpart (CYP2D6, P=0.013; COMT, P=0.277). Among the methylated tumors mean methylation density of CYP2D6 and COMT in the resistant cases was significantly elevated (CYP2D6, P=0.001; COMT, P=0.312). Additionally, in the cancers from the resistant cases, the cells showed a higher percentage of positive staining for Ki67 than those from the control group (P=0.035). Our study indicates that there is an significant relationship between the methylation rate of the CYP2D6 gene and tamoxifen resistance. The tamoxifen-resistant tumors showed more dense methylation of the CYP2D6 gene than control tumors. Although the number of case samples was limited, our results support the hypothesis that hypermethylation of the COMT gene affects the development of tamoxifen resistance.</p>	

※ 연구사업의 목표, 연구방법, 연구성과를 영문으로 요약하여 2쪽이내의 분량으로 작성

편집순서 6 : 연구사업결과

1. 연구사업의 최종목표

- 인체 유방암에서 CYP2D6, COMT 유전자의 촉진자 부위의 메틸화 양상을 조사하고 각종 예후 인자와의 상관 여부를 규명하고자 함.
- 타목시펜 저항성과 CYP2D6, COMT 유전자 촉진자부위의 메틸화와의 상관관계를 밝혀내어, 타목시펜 저항성에 대한 또 하나의 기전으로서 CYP2D6, COMT유전자 메틸화가 관여하고 있다는 가설을 검증하고자 함.

2. 연구사업의 내용 및 결과

- 연구사업 및 단위사업의 이론적, 실험적 연구 방법, 연구 내용 및 결과를 객관적으로 기술

1) 연구수행방법

조직 및 세포주 선택

- 국립암센터 유방암센터에서 유방암으로 수술한 환자와 연령이 같은 타목시펜 저항성 환자 중에서 파라핀 보관 상태가 양호한 조직(대조군 암 조직: 68예, 타목시펜 저항성 암조직: 30예)을 대상으로 함. 타목시펜 저항성은 타목시펜 2년 이상 복용후 재발한 환자로 정의함

면역 조직 화학 염색

- 파라핀으로 보관된 환자의 조직에 대해 ER, PgR, Her-2/neu, Ki67에 대한 면역조직화학 염색을 하여 발현 여부를 관찰함.
- 면역조직화학 염색 상 열 개의 고배율 시야당 전체 종양 세포 중 항체에 대해 양성으로 염색되는 세포의 비율을 0-3으로 나누어 0은 0%, 1은 0-10%, 2는 10-50%, 3은 50%이상으로 정하며, 각각의 핵 내 염색 정도를 역시 0-2로 분류한 뒤 양 인자를 곱한 값을 염색 정도로 정함.

DNA 추출과 PCR (polymerase chain reaction)

- 조직을 바로 조직의 mm² 당 40 μ l 의 버퍼 용액(50mM Tris-HCl(pH 8.0), 1mM EDTA, 0.5% Tween 20, 200 μ g/ml proteinase K)으로 처리

Bisulfite 순열 검사

- Proteinase K로 처리한 DNA 용액 20 μ l을 HindIII로 37°C에서 3시간 동안 반응시켜서 절단시킴. 0.5 μ g의 E. coli tRNA를 첨가한 후, 에탄올 침전시켜서 27 μ l의 증류수에 녹임.
- Bisulfite를 처리하기 위해, 400 μ l의 2.5M sodium bisulfite와 25 μ l의 10 mM hydroquinone을 첨가하여 mineral oil을 1방울 떨구어 PCR 기계에서 55°C에서 16시간 동안 반응시킴.
- 이후 위의 용액을 QIAEX II gel extraction kit로 탈염하여 증류수 40 μ l 에 처리함.
- Desulfonation을 위하여, 4.4 μ l 3M NaOH를 넣고 37°C 15분간 반응한 후, 100% ethanol을 첨가하여 침전시켜 20 μ l의 DW에 녹인 뒤 촉진자 부위에 대한 PCR을 시행함.
- 전술한 바와 같이 PCR상 증폭되는 밴드에 대해 직접 DNA 순열검사를 시행함.
- 본 실험에 사용할 primer는 다음과 같음.

COMT

5'-TTTTTTTTTATTTTTATTGT(Up)

5'-GAAATTAAAATAAGTTTATTT(Down)

CYP2D6

5'-GTTATTAGTTTTGTTTTTTTTGG(up)

5'-TACTCTCACTTCCAAAATCTAC(down)

2) 연구수행 내용 및 결과

① 타목시펜 저항성 군과 대조군에서 CYP2D6유전자와 COMT유전자 CpG 메틸화

○ 파라핀으로 보관된 조직 68개 대조군 조직과 30개 환자군에 대해 연구를 실시함. 대조군과 환자군 사이에 주요 임상 소견(일차 종양의 크기, 림프절 전이 여부, 핵분화등급)에 유의한 차이는 없었음(Table 1).

○ 바이설파이트 처리후 유전자 순열 검사상 COMT 유전자는 대조군에서 42예 (61.8%) 저항군 15예(50.0%)의 종양에서 메틸화가 관찰됨. CYP2D6 유전자 메틸화는 대조군에서 39예 (60.9%) 그리고 저항군에서 25예의 메틸화가 확인됨 (83.3%). 저항군은 대조군 해 CYP2D6 유전자 메틸화가 유의하게 증가되어 있었음(COMT, p=0.277:CYP2D6, p=0.013)(Table 2).

○CYP2D6의 평균 메틸화 밀도를 측정하면 저항군은 54.67 \pm 8.54(%) 대조군은 24.67 \pm 0.98(%)로 양군에서 평균 메틸화 정도의 차이가 통계적으로 유의함. 저항군은 대조군에 비해 COMT의 메틸화 정도는 차이가 없었음 (36.67 \pm 9.24 vs. 37.22 \pm 5.283, p=0.312) (Table3).

② 대조군과 저항군에서 다른 종양 표지가 발현 분석

○ 대조군과 저항군 종양에서 4가지 종양 표지자의 발현 양상을 분석함(PgR, c-erbB2, Ki67, p53). Ki67에 대한 평균 발현 빈도는 저항군에서 23%, 대조군에서 13%으로 대조군에서 유의하게 증가되어 있음. (p= 0.035). 그러나 PgR (54.4% vs 40.0%, p=0.188), c-erbB2 (86.8% vs 83.3%, p=0.655)와 p53 (45.6% vs 53.3%, p=0.479) 양성률은 양군 사이에 유의한 차이가 발견되지 않음(Table 4).

Table 1. Clinicopathologic features in the tamoxifen resistant and the control group

	Tamoxifen resistant (n=30)	control(n=68)	p-value
Mean primary tumor size	2.92±0.35	2.98±0.48	0.645 ¹⁾
Presence of node metastasis	14(46.7)	38(55.9)	0.881 ²⁾
Nuclear grade			0.563 ²⁾
Grade 1	12(40.0)	25(36.8)	
Grade 2	8(26.7)	21(30.9)	
Grade 3	10(33.3)	22(32.3)	

Statistical Methods: 1) Student's T test, 2) Chi square test

Table 2. Methylation of COMT and CYP2D6 genes in the tamoxifen resistant and the control group

	Tamoxifen resistant (n=30)	control(n=68)	p-value
CYP2D6 methylation	25 (83.3)	39(60.9)	0.013
COMT methylation	15(50.0)	42(61.8)	0.277

Statistical Methods: Chi square test

Table 3. Methylation density and dense methylation of the COMT and CYP2D6 genes in the tamoxifen resistant and the control group

	Tamoxifen resistant (n=30)	Control(n=68)	p-value
COMT methylation			
Mean methylation density	36.67±8.24	37.22±5.28	0.312
CYP2D6 methylation			
Mean methylation density	54.667±8.54	24.67±0.98	0.001

Statistical Methods: Student's T test

Table 4. Comparison of various markers in the tamoxifen resistance and the control group

	Tamoxifen resistant (n=30)	control(n=68)	p-value
PgR positive rate	12(40.0%)	37(54.4%)	0.188 ¹⁾
c-erbB2 positive rate	25(83.3%)	59(86.8%)	0.655 ²⁾
Ki 67 expression (%)	23.53±3.99	13.07±2.16	0.035 ³⁾
p53 positive rate	16(53.3%)	17(45.6%)	0.479 ¹⁾

Statistical Methods: 1) Chi square test, 2)Fisher's exact test, 3) Student's T test,

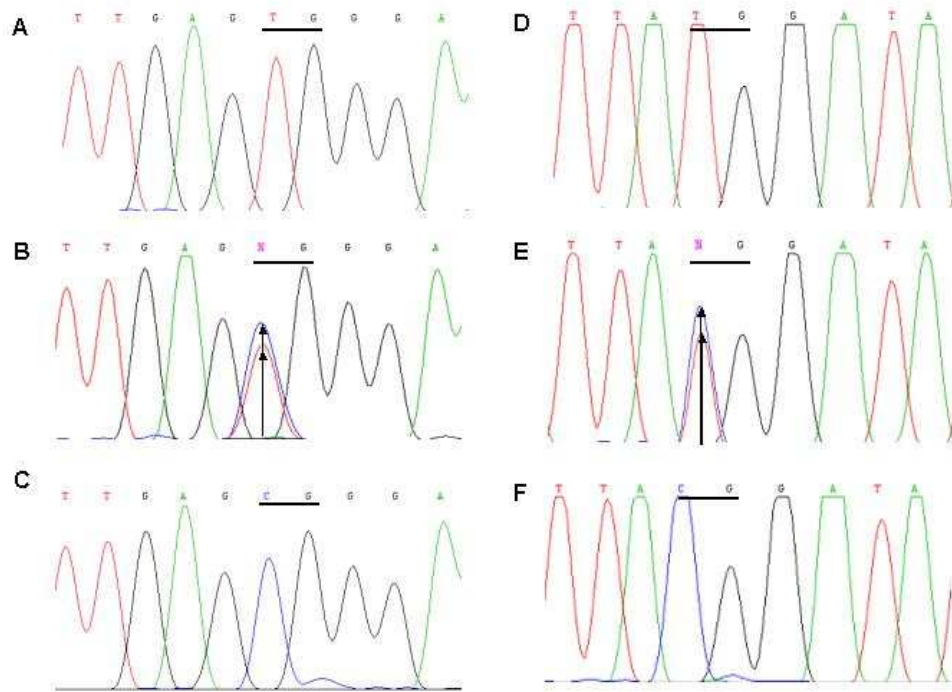


Fig. 1. The methylated and unmethylated sample of the CYP2D6 (A, C, E) and COMT(B, D, F) genes. All of the unmethylated cytosines were changed to thymine by the bisulfite treatment, but not methylated cytosines were not changed. The CpG sites are indicated by underlining.

3. 연구결과 고찰 및 결론

- 국내·외 관련분야의 기술개발 현황과 연구결과가 국내·외 기술개발 분야에서 차지하는 위치 등을 기술
- 연구결과 해석 및 다른 결과와의 비교분석 등에 대해 고찰하고 결론을 서술함

비스테로이드성 타목시펜은 현재 에스트로겐 수용체 양성 환자에서 일차 내분비 치료제로 인정받고 있다. 실제로 수용체 양성환자의 2/3 이상은 타목시펜에 초기 효과가 있지만 나중에 상당수 환자가 타목시펜에 저항성을 보이게 된다. 획득성 저항성은 여러 가지 요인이 작용하리라 생각되지만 현재 확실한 기전이 밝혀지지 않았다. 여러 가지 원인으로 생각되는 것 중 타목시펜이 국소적으로 효과가 떨어지는 대사물로 변환, 세포 신호 체계의 이상, 수용체의 돌연변이나 소실 등이 원인으로 제기되고 있다.

CYP 효소는 포유류에서 정상적인 발달을 위해 필요하며, 많은 생화학 물질과 반응하기 때문에 여러 화합물의 생성과 대사에 많은 역할을 하고 있다. CYP 효소들은 유방암의 발암원으로 알려진 물질들을 C- 또는 N-수산화물 통해 활성화시킨다. 이런 물질들의 발현 정도를 높이는 유전자에 이상이 발생하여 CYP 대사능력이 활성화되면 유방암의 발생을 촉진시킬 것으로 생각되고 있다.

유방의 경우 간에 비해 함유량이 500배나 적어서 일반적인 단백 검정 방법으로는 측정이 안되고, reverse transcription-PCR 방법을 이용해야 측정되는 경우가 대부분이다. CYP1계의 효소와 반응하는 화합물로는 polycyclic aromatic hydrocarbons 과 heterocyclic amines 등이 있다.

N-Desmethyltamoxifen(NDM)은 타목시펜의 주요 일차 대사물의 하나로 cytochrome P450 (CYP) 2D6에 의해 수산화 되어 엔독시펜을 만들어 낸다. 실제 많은 CYP 아형(CYP3A, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2B6, CYP1A2)이 타목시펜의 약대사와 관계가 있다고 하지만 실제 가장 중요한 것은 CYP2D6로 4-hydroxytamoxifen과 endo 타목시펜을 복용하는 환자에서 혈장내 가장 많이 존재하는 것은 N-desmethyltamoxifen 과 endoxifen으로 실제 endoxifen의 경우는 에스트로겐 수용체에 타목시펜이나 N-desmethyltamoxifen에 비해 100배이상의 결합능력을 보인다.

endoxifen은 CYP2D6에 의해 만들어 지며 CYP2D6 유전자 다형성에 이상이 있는 경우 정상 여성 보다 타목시펜의 역할이 떨어질 수 있다. 실제 80명의 유방암 환자에서 타목시펜을 먹는 경우 4개월 간 치료후 대조군에 비해 CYP2D6 유전자가 결손이 있는 유형인 경우 혈장 endoxifen의 농도가 유의하게 저하되어 있었다.

COMT catechol (2-hydroxy) estrogen을 불활성화 시키는데 대개 간과 신장에서 많이 관찰되지만, 유방이나 적혈구 그리고 자궁내막에서도 관찰되는 것으로 알려졌고, 이 효소는 수용성 형태와 세포막 결합 형태로 존재한다. 대개 유방에서는 유방 관상피 세포에서 이 효소가 발견된다. 2-hydroxy 와 4-hydroxy 에스트로겐은 유방암의 발암기전과 관련이 있는 것으로 알려

져있다.

COMT codon 158에서 유전적 다형증 (G--->A) 은 valine을 methionine [COMT (Val)COMT (Met)]로 변화시키는데 이 다형성은 효소의 활성을 저하시키며 유방암의 발생 빈도를 높이는 것으로 알려졌다. 한 연구에 의하면 (281 환자군과 289 대상군) COMT (Met/Met) 유전형은 폐경전 여성에서 유방암의 발생빈도를 증가시킨다 (OR, 2.1; 95% CI, 1.44.3). 또한 과체중 여성이 COMT Met/Met 유전형을 갖게 되면 유방암 위험도가 더욱 증가하게 된다(OR, 5.7. 95% CI, 1.130.1). 폐경후 여성에서 COMT 다형성은 논문에 따라 차이가 있어 현재 결론을 내리기 어렵지만, 체격이 큰 여성이 Met/Met 동형성(homozygosity)을 보이면 유방암의 위험성은 특히 증가한다.(OR, 3.58; 95% CI, 1.07-11.98). 여러 유전자의 유전적 다형성과 유방암의 위험도를 조사한 연구에서도 COMT Met/Met 유전형은 가장 유의한 유방암의 위험인자라고 보고하고 있다 (4-fold relative risk; 95% CI, 1.12-19.08).

본 연구 결과, 타목시펜 저항군은 대조군에 비해 CYP2D6 메틸화가 유의하게 증가되어 있었다. 현재까지 대부분의 연구가 CYP2D6 의 다형성에 집중되어 있고 CYP2D6 유전자 메틸화와 관련된 보고는 없다. 암의 발달 과정에서 다형성과 메틸화에 관계에 관한 논문을 보면 Deng 등은 hMLH1 유전자의 경우 프로모터 부분의 다형성 보다는 메틸화가 실제 위암의 발암과정과 상관 관계가 높다고 보고하였다. 아울러 인체 호흡기계 조절 유전자인 NDUFB6의 경우 유전적 다형성과 후성적 메틸화의 상호 작용으로 인해 발현 빈도가 감소한다고 한다. 이런 사실을 종합하면 CYP2D6 유전자의 다형성과 메틸화가 타목시펜 저항성에 서로 상호 작용으로 혹은 독립적 영향을 줄 개연성이 있다.

본 연구 결과 타목시펜 저항성 유방암은 CYP2D6은 메틸화 밀도가 대조군에 비해 증가하는 결과를 보였다. 이는 메틸화 밀도가 증가하는 것은 타목시펜 저항성을 획득하는 과정에서 보이는 후성적 진화(epigenetic evolution)과정으로 설명될 수 있다. 유방암의 발전과정에서 DNA 메틸화는 하나의 일시적 현상이 아닌 계속 진행되는 과정이다. 실제 p16 이나 E-cadherin의 메틸화 빈도는 유방암의 진행정도와 유의한 관계를 보인다고 한다.

요약하면 CYP2D6의 메틸화는 타목시펜 저항성과 상당한 관계를 보이며 실제 이를 바탕으로 다형성과 동시에 메틸화 발현 양상을 분석한다면 타목시펜 저항성 유방암을 좀 더 수월하게 예측하고, 발견할 수 있다고 본다.

4. 연구성과 및 목표달성도

(1) 연구성과

- 사업시작시점부터 사업종료시점까지의 연구성과(학술지 게재, 학회발표, 학위논문, 산업재산권 출원·등록, 워크숍 또는 심포지움 개최, 전시회 참가, 임상응용, 기술성과 이전, 벤처 창업

등의 실적) 기재

가. 국내 및 국제 전문학술지 논문 게재 및 신청

논문명	저자 (저자구분)	저널명(I.F.)	Vol(No)Page	구분	과제 관련성
Promoter hypomethylation of the N-acetyltransferase 1 gene in breast cancer	교신	Oncology reports (1.572)	게재예정	국외SCI	상

※저자구분 : 교신, 제1, 공동

※구분 : 국내, 국내 SCI, 국내 SCIE, 국외, 국외SCI, 국외SCIE 등

※과제관련성 : 상(Acknowledgement 가 있는 경우), 중, 하

나. 국내 및 국제 학술대회 논문 발표

논문명	저자	학술대회명	지역	과제 관련성

※지역 : 국내, 국외

다. 산업재산권

구분	특허명	출원인	출원국	출원번호

※구분 : 발명특허, 실용신안, 의장등록 등

라. 저서

저서명	저자	발행기관(발행국, 도시)	쪽수	Chapter 제목, 쪽수 (공저일 경우)

마. 연구성과의 정부정책 기여

보고서명	정부정책	기여내용

바. 기타연구성과

(2) 목표달성도

가. 연구목표의 달성도

- 사업목표에 대한 달성내용 및 관련분야 기술발전예의 공헌도 등을 기술
- 달성도(%)는 연차별목표대비 당해연도 달성도 및 최종목표대비 당해연도까지의 누적 달성도를 반드시 기입

최종목표	연차별목표		달성내용	달성도(%)	
				연차	최종
약대사 유전자와 타목시펜 저항성의 상관관계	1차년도	타목시펜 저항성과 NAT1, SULT1A1 유전자 메틸화의 상관관계	각각 조직에서 NAT1, SULT1A1 유전자 메틸화의 분석	100	50
	2차년도	타목시펜 저항성과 COMT, CYP2D6 유전자 메틸화의 상관관계	각각 조직에서 COMT, CYP2D6 유전자 메틸화의 분석	100	100

나. 평가의 착안점에 따른 목표달성도에 대한 자체평가

평가의 착안점	자 체 평 가
1) 연구대상 수의 적절성 및 연구대상 선정의 적절성	○ 환자군의 선정은 연구기간동안 (2000년 11월 부터 2005년 11월까지) 국립암센터 유방암 센터에서 임상적 그리고 병리조직학적으로 확진된 유방암 환자를 연속적으로 선정하여 연구대상선정에 개입될 수 있는 비뿔림을 배제하려함.
2) 유전자 구조 분석법의 적절성	○ COMT과 CYP2D6 유전자의 촉진자 부분에 대한 메틸화 분석법은 프로토콜화하여 재현 분석가능하며, 정성 타당도 및 신뢰도, 역시 확인되고 있음.
3) 자료의 제시 방법이 적절한가	○ 각각의 변수에 대한 빈도, 평균값 등에 대해 적절한

	통계 분석법을 이용하고자 함.
4) 결과의 제시가 명확한가	○ COMT과 CYP2D6 유전자의 촉진자 부분에 대한 메틸화 분석법은 표준화되어 분석가능함.

5. 연구결과의 활용계획

(1) 연구종료 2년후 예상 연구성과

○ 연구종료 2년후까지 연구사업 결과로 발생할 것으로 예상되는 성과, 즉 학술지 게재, 산업재산권 등을 단계별로 다음의 양식에 의거하여 작성함. 학술지 게재는 게재 예상 학술지 명과 Impact Factor 등을 기재함
○ 연구사업의 내용이 논문이나 산업재산권과 연결되기 힘든 과제인 경우, 자유 형식으로 예상연구성과 및 활용정도를 기재하되 최대한 계량화할 것
예) DB 몇 건 구축완료, OOO 시스템 구축 및 OO사업 완료

구 분	건 수	비 고
학술지 논문 게재	1-2	International J of Cancer
산업재산권 등록		특허 등록 예상 국가, 예상 특허명 등
기 타		

(2) 연구성과의 활용계획

○ 연구성과물의 활용분야 및 활용방법, 활용범위 등을 구체적(특히 시간적 구체성, 예를 들어 몇 년 안에 치료기술 실용화 등)으로 기술하되, 참여기업이 포함되어 있는 과제의 경우 기업과 연계한 활용방안에 대해서도 기술함
○ 추가연구의 필요성에 대해서도 간략하게 기술함

○ 타목시펜 저항성의 기전에서 CYP2D6와 COMT 유전자 촉진자 부위의 메틸화가 어떤 역할을 하는 지 규명하여 타목시펜 저항성의 기전을 이해할 수 있음.

○ 타목시펜 저항성에서 CYP2D6와 COMT 유전자 촉진자 부위 메틸화 중 특정 부위 CpG나 메틸화 빈도 차이를 확인하여 메틸화의 위치나 빈도가 타목시펜 저항성에 어떤 영향을 주는지 확인.

○ CYP2D6와 COMT 유전자 촉진자 메틸화가 타목시펜 저항성과 관련 있을 경우 타목시펜 저항성을 보일 수 있는 유방암 환자 군을 예측하여 좀 더 집중적인 치료를 할 수 있어 환자의 치료

효과를 높일 수 있음.

○ 유방암에서 다양한 유전자의 메틸화를 유방암의 각각의 발전 단계 별로 메틸화 양상과 실제 여러 임상 지표의 상관 관계에 관한 후속 연구가 필요하다고 판단됨.

○ 특히 본 연구에서 밝혀진 사실을 유방암 뿐 아니라 다양한 암종에 대해 각각의 병기 별로 메틸화 양상을 파악하여 그 양상에 따른 치료 방법을 고안하는 대단위 연구가 필요함.

6. 참고문헌

○ 보고서 작성시 인용된 모든 참고문헌을 열거

1. Kirchheiner J.CYP2D6 Phenotype Prediction From Genotype: Which System Is the Best?Mol Ther. 2008;83(2):225-7.
2. Ingle JN.Pharmacogenomics of tamoxifen and aromatase inhibitors.Cancer. 2007 Dec 10;112(S3):695-699
3. Schroth W, Antoniadou L, Fritz P, Schwab M, Muerdter T, Zanger UM, Simon W, Eichelbaum M, Brauch H.Breast cancer treatment outcome with adjuvant tamoxifen relative to patient CYP2D6 and CYP2C19 genotypes.J Clin Oncol. 2007;25(33):5187-93.
4. Desta Z, Flockhart DA.Germline pharmacogenetics of tamoxifen response: have we learned enough?J Clin Oncol. 2007 ;25(33):5147-9.
5. Ingelman-Sundberg M, Sim SC, Gomez A, Rodriguez-Antona C.Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects.Pharmacol Ther. 2007;116(3):496-526.
6. Gjerde J, Hauglid M, Breilid H, Lundgren S, Varhaug JE, Kisanga ER, Mellgren G, Steen VM, Lien EA.Effects of CYP2D6 and SULT1A1 genotypes including SULT1A1 gene copy number on tamoxifen metabolism. Ann Oncol. 2008;19(1):56-61.
7. Goetz MP, Kamal A, Ames MM.Tamoxifen pharmacogenomics: the role of CYP2D6 as a predictor of drug response.Clin Pharmacol Ther. 2008;83(1):160-6.
8. Pruthi S, Boughey JC, Brandt KR, Degnim AC, Dy GK, Goetz MP, Perez EA, Reynolds CA, Schomberg PJ, Ingle JN.A multidisciplinary approach to the management of breast cancer, part 2: therapeutic considerations. Mayo Clin Proc. 2007;82(9):1131-40.
9. Jordan VC.New insights into the metabolism of tamoxifen and its role in the treatment and prevention of breast cancer.Steroids. 2007;72(13):829-42.
10. Lim HS, Ju Lee H, Seok Lee K, Sook Lee E, Jang IJ, Ro J.Clinical implications of

CYP2D6 genotypes predictive of tamoxifen pharmacokinetics in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25(25):3837-45.

11. Ntukidem NI, Nguyen AT, Stearns V, Rehman M, Schott A, Skaar T, Jin Y, Blanche P, Li L, Lemler S, Hayden J, Krauss RM, Desta Z, Flockhart DA, Hayes DF. Estrogen Receptor Genotypes, Menopausal Status, and the Lipid Effects of Tamoxifen. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;22;

12. Mortimer JE, Flatt SW, Parker BA, Gold EB, Wasserman L, Natarajan L, Pierce JP; For the WHEL Study Group. Tamoxifen, hot flashes and recurrence in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2007

13. Borges S, Desta Z, Li L, Skaar TC, Ward BA, Nguyen A, Jin Y, Storniolo AM, Nikoloff DM, Wu L, Hillman G, Hayes DF, Stearns V, Flockhart DA. Quantitative effect of CYP2D6 genotype and inhibitors on tamoxifen metabolism: implication for optimization of breast cancer treatment. *Clin Pharmacol Ther.* 2006;80(1):61-74.

14. de Leon J, Susce MT, Murray-Carmichael E. The AmpliChip CYP450 genotyping test: Integrating a new clinical tool. *Mol Diagn Ther.* 2006;10(3):135-51.

15. Lim YC, Li L, Desta Z, Zhao Q, Rae JM, Flockhart DA, Skaar TC. Endoxifen, a secondary metabolite of tamoxifen, and 4-OH-tamoxifen induce similar changes in global gene expression patterns in MCF-7 breast cancer cells. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;318(2):503-12.

16. Abrahamson PE, Tworoger SS, Aiello EJ, Bernstein L, Ulrich CM, Gilliland FD, Stanczyk FZ, Baumgartner R, Baumgartner K, Sorensen B, Ballard-Barbash R, McTiernan A. Associations between the CYP17, CYP1B1, COMT and SHBG polymorphisms and serum sex hormones in post-menopausal breast cancer survivors. *Breast Cancer Res Treat.* 2007;105(1):45-54.

17. Lee SM, Tseng LM, Li AF, Liu HC, Liu TY, Chi CW. Polymorphism of estrogen metabolism genes and cataract. *Med Hypotheses.* 2004;63(3):494-7.

18. Miyoshi Y, Noguchi S. Polymorphisms of estrogen synthesizing and metabolizing genes and breast cancer risk in Japanese women. *Biomed Pharmacother.* 2003;57(10):471-81.

7. 첨부서류

○ 본 연구사업의 성과로 논문, 저서, 산업재산권, 정책정책 기여 등이 있을 경우 관련 증빙자료를 첨부토록 함