

기관고유연구사업 최종보고서

(과제번호 : 0910270)

(국문) 발암물질 대사와 관련된 식도암 발생의 유전적 소인에
대한 연구

(영문) Study for genetic susceptibility to esophageal
cancer in relation to metabolism of carcinogens

과제책임자 : 이 도 훈

국 립 암 센 터

(뒷면)

(측면)

↑
5cm
↓

과
제
명

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

(14 pont, 고딕체)

국
립
암
센
터

↑
3cm
↓

↑
6cm
↓

제 출 문

국립암센터 원장 귀하

이 보고서를 기관고유연구사업 “발암물질 대사와 관련된 식도암 발생의 유전적 소인에 대한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2012. 11. 07

국립암센터

과 제 책 임 자 : 이 도 훈

연 구 원 : 조제일, 이종목, 김문수, 이건국, 최수정

목 차

< 요약 문 >

(한글)

(영문)

1. 연구의 최종목표
2. 연구의 내용 및 결과
3. 연구결과 고찰 및 결론
4. 연구성과 및 목표달성도
5. 연구결과의 활용계획
6. 참고문헌
7. 첨부서류

< 요약 문 >

연구분야(코드)				과제번호	0910270-2
과제명	발암물질 대사와 관련된 식도암 발생의 유전적 소인에 대한 연구				
연구기간/연구비 (천원)	합계	2009년 1월 1일 ~ 2011년 12월 31일			150,000
	1차년도	2009년 1월 1일 ~ 2009년 12월 31일			50,000
	2차년도	2010년 1월 1일 ~ 2010년 12월 31일			50,000
	3차년도	2011년 1월 1일 ~ 2011년 12월 31일			50,000
과제책임자	성명	이도훈	소속	진단검사센터	
	전화번호	1734	전자우편	dhlee@ncc.re.kr	
책임단어	국문	식도암, 발암물질, 유전적 소인			
	영문	Esophageal cancer, carcinogen, genetic susceptibility			
◆ 연구목표 <최종목표> 강력한 발암물질인 Tobacco-specific nitrosamine의 gluruconidation 대사에 관련된 유전적 소인이 식도암 발생에 대해 미치는 영향을 규명하고, 이를 식도암 고위험군의 선별에 이용하고자 함. <당해년도 목표> 중앙은행에 기 등록된 식도암 환자에 대한 N- & O-glucuronidation 대사에 관련된 UGT 유전자 분석 (1A4, 1A9, 2B7, 2B10, 2B17)					
◆ 연구내용 및 방법 - 대상 환자: 중앙은행에 기 등록된 식도암 환자 말초혈액의 핵산 추출 - 분석방법: 말초혈액 검체를 이용, N-glucuronidation 및 O-glucuronidation 대사 관련 유전자에 대해 다음과 같이 분석. 1) Direct sequencing: promoter, 전체 exon 및 flanking region 2) Large deletion, duplication: gene dosage test - 환자군에서 발견된 변이 유전형에 대해 다음의 분석을 추가로 실시. 1) Functional assay: 조직의 RNA 발현 정량 2) In-silico analysis: missense variation의 functional effect에 대한 prediction. - 흡연 관련 식도암의 유전적 소인 규명 및 식도암의 고위험군 선별 전략 수립 - N-glucuronidation 및 O-glucuronidation 대사 관련 유전자의 한국인 유전형 DB 구축					

◆ 연구성과 -정량적 성과 <table border="1"> <thead> <tr> <th>구분</th> <th>달성치/목표치</th> <th>달성도(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>SCI 논문 편수</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>IF 합</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>기타 성과</td> <td>국제학회 연구발표 1/1</td> <td>100%</td> </tr> </tbody> </table> -정성적 성과			구분	달성치/목표치	달성도(%)	SCI 논문 편수			IF 합			기타 성과	국제학회 연구발표 1/1	100%
구분	달성치/목표치	달성도(%)												
SCI 논문 편수														
IF 합														
기타 성과	국제학회 연구발표 1/1	100%												
◆ 참여연구원 (최종연도 참여인원)	성명	이도훈, 조재일, 이종목, 김문수, 이건국, 최수정												

※ 요약문의 총분량은 2page 이내로 제한함

Project Summary

Title of Project	Study for genetic susceptibility to esophageal cancer in relation to metabolism of carcinogens
Key Words	Esophageal cancer, carcinogen, genetic susceptibility
Project Leader	Do-Hoon Lee
Associated Company	Not applicable
<p>Purpose This study aims to investigate effects of genes relating to glucuronidation of tobacco-specific nitrosamines on development of esophageal cancer, and to use these genetic associations to screen high-risk subjects in general population</p> <p>Methods Total 218 esophageal cancer patients and 197 of age and sex-matched normal subjects were enrolled in this study. The genomic DNA sequences of five genes were analyzed using Sanger sequencing which are related to N-glucuronidation and O-glucuronidation: UGT1A4, UGT1A9, UGT2B7, UGT2B10, and UGT2B17.</p> <p>Results This study determined minor allele frequency in the normal Korean subject for five genes. Main findings were as follows: UGT1A4*1e (allele frequency 0.8); UGT1A4*4 (0.5%); UGT1A4*3b (13.9%); UGT1A4*6 (0.3%); UGT1A9*3 (9.3%). We also detected novel sequence variants with no previous report in the targeted genes. Among esophageal cancer patients, following missense variants were newly identified: UGT1A4:c.8G>C, p.R3T; UGT1A4:c.1145G>A, p.S382N; UGT1A4:c.1210C>T, p.R404C; UGT1A4:c.1218G>A, p.E406K; UGT2B7:c.469A>G, p.G157S; UGT2B10:c.403C>G, p.L135V; UGT2B10:c.482A>C, p.E161A; UGT2B10:c.512A>T, p.H171L; UGT2B17:c.1312C>T, p.P438S; UGT2B17:c.866G>A, p.G289R. Further functional study may elucidate the enzymatic characteristics of these UGT genotypes and the pathogenic risk of these genotypes in cancer patients, especially Korean ethnicity.</p>	

1. 연구의 최종목표

강력한 발암물질인 Tobacco-specific nitrosamine의 gluruconidation 대사에 관련된 유전적 소인이 식도암 발생에 대해 미치는 영향을 규명하고, 이를 식도암 고위험군의 선별에 이용하고자 함.

- 식도암은 한국인 남성에서 아홉번째로 흔하고, 5년 생존율이 20% 이하로 매우 낮은 암종임. 식도암의 불량한 예후는 진단 당시 3에서 이미 국소적 침윤 또는 전이를 보이는 것과 연관되어 있음. 식도암의 조기 발견이 생존율 향상과 직결되는 핵심요인임을 감안할 때, 식도암의 고위험군 선별은 암예방적 측면에서 매우 중요하다고 할 수 있음.
- 암 발생은 유전-환경의 상호작용의 결과로 이해되고 있음. 지금까지 알려진 식도암의 위험인자는 흡연과 알콜이 대표적임. 하지만 이들에 의한 식도암의 발생 위험은 성별, 인구집단별, 개인별로 동일하지 않으며, 최근 연구는 이러한 차이가 개인별 유전적 소인과 밀접히 연관되어 있음을 보여주고 있음.
- 식도암 발생과 연관성이 있을 것으로 추정되는 유전자는 크게 1) 담배 발암물질 및 알콜 대사에 관련된 유전자, 2) DNA 손상의 복구에 관련된 유전자, 3) 세포주기 조절과 관련된 유전자, 4) 세포사멸에 관련된 유전자, 5) 만성 면역과 관련된 유전자, 6) 세포 성장과 관련된 유전자 등으로 분류할 수 있음.
- 담배 연기에 포함된 대표적인 발암물질은 N-nitrosamines (NNN, NNK), polycyclic aromatic hydrocarbons (BAP), aromatic amines, aldehydes 등이 있음. 이들의 대사에는 phase I (CYP P450, EPHX), phase II (GST, UGT)의 다양한 효소가 관여함. NNK는 체내에서 40-100%가 NNAL로 전환되고, glucuronidation 과정을 거쳐 NNN, NNAL의 독성이 제거됨. 이러한 glucuronidation 과정은 비교적 최근에야 밝혀지기 시작하였고, 이에 의하면 NNN은 N-glucuronidation 과정을, NNAL은 N- 및 O-glucuronidation 과정을 통해 독성 제거가 이루어짐. O-glucuronidation에 관여하는 효소는 UGT1A9, UGT2B7, UGT2B17, N-glucuronidation에 관여하는 효소는 UGT1A4, UGT2B10가 알려져 있음.
- 지금까지 식도암 발생에서 흡연과 관련된 유전적 소인에 대한 연구는 대부분 CYP, GST 유전자에 집중되어 있었음.
- 본 연구는 tobacco-specific nitrosamine(TSNA)의 일종이자 동물실험에서 폐암과 식도암을 유발하는 가장 강력한 발암물질인 NNN, NNK, NNAL의 대사와 관련된 유전자(UGT1A4, 2B10, 1A9, 2B7, 2B17)를 대상으로 각 유전자의 변이 유전형이 식도암 발생에 미치는 영향을 분석함으로써, 발암물질에 의한 식도암의 발생기전을 밝히고자 함. UGT1A4, 2B10, 1A9, 2B7, 2B17 유전자는 NNN, NNK 대사에서 핵심적인 역할을 수행하는 유전자들이므로 이의 변이유전형이 식도암 발생과 관련된 가능성이 매우 높음. 그럼에도 불구하고 식도암 발생과 관련하여 UGT 유전자에 대한 연구는 지금까지 거의 이루어지지 않았고 시작 단계에 있어,

본 연구가 반드시 필요함.

2. 연구의 내용 및 결과

A. 연구 대상

- 1) 식도암 환자 218명
- 2) 정상인 대조군 197명

B. 연구 방법

- 1) 대상 유전자: 총 5종의 glucuronidation 관련 유전자를 연구 대상으로 하였음 (Figure 1)

a. N-glucuronidation 관여 유전자:

- UGT1A4 (UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A4 [Homo sapiens])
Gene ID: 54657
Reference mRNA NM_007120.2, 5 exons, total annotated spliced exon length: 2374
Reference precursor Protein NP_009051.1, 5 coding exons, annotated AA length: 534
- UGT2B10 (UDP glucuronosyltransferase 2 family, polypeptide B10 [Homo sapiens])
Gene ID: 7365
Reference transcript variant 1 mRNA NM_001075.4, 6 exons, total annotated spliced exon length: 2756
Reference isoform 1 precursor Protein NP_001066.1, 6 coding exons, annotated AA length: 528

b. O-glucuronidation 관여 유전자: UGT1A9, 2B7, 2B17

- UGT1A9 (UDP glucuronosyltransferase 1 family, polypeptide A9 [Homo sapiens])
Gene ID: 54600
Reference mRNA NM_021027.2, 5 exons, total annotated spliced exon length: 2376
Reference precursor Protein NP_066307.1, 5 coding exons, annotated AA length: 530
- UGT2B7 (UDP glucuronosyltransferase 2 family, polypeptide B7 [Homo sapiens])
Gene ID: 7364
Reference mRNA NM_001074.2, 6 exons, total annotated spliced exon length: 1887
Reference precursor Protein NP_001065.2, 6 coding exons, annotated AA length: 529
- UGT2B17 (UDP glucuronosyltransferase 2 family, polypeptide B17 [Homo sapiens])
Gene ID: 7367
Reference mRNA NM_001077.3, 6 exons, total annotated spliced exon length: 2077
Reference precursor Protein NP_001068.1, 6 coding exons, annotated AA length: 530

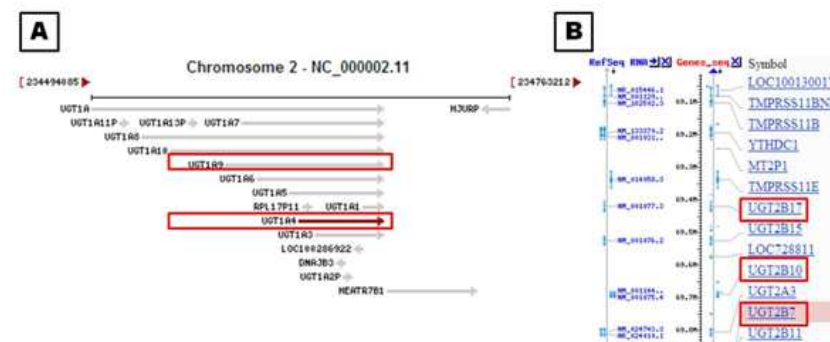


Figure 1. Genomic location of targeted genes which marked by red boxes. (A) UGT1A9 and UGT1A4 (B) UGT2B7, 2B10, and 2B17

2) 연구방법

a. 채혈 및 핵산 추출

각 연구대상자의 말초혈액에서 DNA Blood mini kit를 이용하여 DNA를 추출함

b. 유전자 분석

- (i) 최근의 human genome sequence (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=gene>)를 reference로 함.
- (ii) 유전자 염기의 numbering과 표기는 HUGO nomenclature를 따름 (<http://www.hgvs.org/mutnomen/>).
- (iii) Sanger sequencing 법에 의한 유전자 염기서열분석:
 - 각 유전자의 모든 exon과 splicing junction을 포함하는 intron에 대하여 PCR 후 dideoxy reaction 법으로 다음과 같이 염기서열을 분석하였음.
 - ① 대상 exon과 intron 부위를 PCR로 증폭하고, 순수 분리함 (Table 1).
 - ② 적절한 양 (1-40 ng)의 PCR 산물을 BigDye Terminator v1.1/3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems)과 cycle sequencing 반응함.
 - ③ Unincorporated dye terminator를 EtOH/ EDTA법으로 제거함.
 - ④ ABI 3730 자동유전분석기를 이용하여 전기영동함.
 - ⑤ 염기서열 분석용 software, Seqscape, Mutation Surveyor, Sequencer 등을 이용하여 염기의 정확한 변이를 검출함.
- c. 유전자 변이에 대한 in-silico analysis 및 기능적 분석:
 - 본 연구를 통해 새롭게 발견된 염기변이 (Novel unclassified variants)는 novel polymorphism과 novel mutation을 감별하였음. 감별시 필요한 경우, 다음과 같은 분석을 시행하였음.
 - (i) 염기변이의 functional effect 분석
 - Amino acid의 특성에 대한 In-silico analysis
 - Amino acid의 중간 conservation 확인

Polyphen/SIFT/PMut 등 prediction software 이용

(ii) 정상대조군의 빈도 분석

Table 1. Primers using sequence analysis of UGT1A4, 1A9, 2B7, 2B10, and 2B17

UGT1A4	Primer Sequence (5'-3')
UGT1A4_P_F	ACATGTGGTTGGGGACTAGG
UGT1A4_P_R	ACTGAGGAGGAGCAGCAGTC
UGT1A4_E1F1_F	TGATTTGCTAGGTGGCTCAA
UGT1A4_E1F1_R	CACCTATGAAGGGCCAAAGA
UGT1A4_E1F2_F	TTTTCACCCTGACAGCCTATG
UGT1A4_E1F2_R	GTTCTTGACCCTTTGCAGGA
UGT1A4_E1F3_F	TGTCGATTCTGCTGTGTTT
UGT1A4_E1F3_R	GAAGCCAAAATAAAATCTTTGGAA
UGT1A4_E2_F	TGGATTTTGCATCTCAAGGA
UGT1A4_E2_R	GCAGGGAAAAGCCAAATCT
UGT1A4_E3_F	CAAAACAAGATGCCGGAAGT
UGT1A4_E3_R	TTACTCATATGCCCTTGCAG
UGT1A4_E4_F	CTGCAAGGCATGTGAGTAA
UGT1A4_E4_R	GAAACAACGCTATTAAATGCTACG
UGT1A4_E5_F	TTCTTAAGCAGCCATGAGCA
UGT1A4_E5_R	TTAACACTGATTCTGTTTTCAAGTTT

UGT1A9	Primer Sequence (5'-3')
UGT1A9_P_F	GAGCCCCAATTAGGAGGTT
UGT1A9_P_R	GTCAGCAGCAGACACACACA
UGT1A9_E1F1_F	AAAAACACGCCCTCTATTGG
UGT1A9_E1F1_R	AAAAATGTCATTTGTATGAACCCATT
UGT1A9_E1F2_F	TGGCAACTGGGAAGATCACT
UGT1A9_E1F2_R	CCAAGTGCATGATGTGGTTC
UGT1A9_E1F3_F	CTTCGCCAGGGGAATACTTT
UGT1A9_E1F3_R	TGGAAAGAAATTTGAAATGAAACA
UGT1A9_E2_F	1A4와 동일
UGT1A9_E2_R	
UGT1A9_E3_F	
UGT1A9_E3_R	
UGT1A9_E4_F	
UGT1A9_E4_R	
UGT1A9_E5_F	
UGT1A9_E5_R	

UGT2B7	Primer Sequence (5'-3')
UGT2B7_P_F	CAAAAATATGTGGACCATGTTTAGTC
UGT2B7_P_R	GCAAAAGCTCAGTTGTATTAGCA
UGT2B7_E1F1_F	GGGTTACATTTTAACTTCTTGCTA
UGT2B7_E1F1_R	CAAAATGTATCTTTTGGAAGGTCTG

UGT2B7_E1F2_F	GGTGACTGTACTGGCATCTTCA
UGT2B7_E1F2_R	TCCATGAAAGTCATTTGATCAGT
UGT2B7_E1F3_F	TGGTCAGACCTTCCAAAAGA
UGT2B7_E1F3_R	GCCACAGGGTTTTTAAC TGACC
UGT2B7_E2_F	TGTGTATATATTTTTTCAAAGCACAGA
UGT2B7_E2_R	TCAGTGTAAGTCAAACACTCTGAAA
UGT2B7_E3_F	AACAGCATCCACCTATCTCATATT
UGT2B7_E3_R	AAAATGCAACCACAATTTTCAA
UGT2B7_E4_F	GTTGGCCACACGTAGGTTTTT
UGT2B7_E4_R	ACAGAGAGACAGCCCAGGAA
UGT2B7_E5_F	AGCCCAACTGGAAATCTTGT
UGT2B7_E5_R	GACAAGAGAAGCTATCTGTAATACCA
UGT2B7_E6_F	GCCGAATAAAACCCCTTCCTT
UGT2B7_E6_R	TTGCATCACAAATCTTTCTTGC

UGT2B10	Primer Sequence (5'-3')
UGT2B10_P_F	TCCTTGAACCAAGATATTCAAAAA
UGT2B10_P_R	CTTCCACAACCTCCAGAGC
UGT2B10_E1F1_F	CATCCATGTACTCAGGATGCTC
UGT2B10_E1F1_R	TGTCATTAATTGCCACAGG
UGT2B10_E1F2_F	CAGCCTTTGGATGAATATGAAG
UGT2B10_E1F2_R	GGAACCAAAAGTCAAAATAAGCA
UGT2B10_E1F3_F	CCTGTGGCAATTAATGACA
UGT2B10_E1F3_R	TCACAGCGTTTTTCACTGACC
UGT2B10_E2_F	ACCAACATTTTTTGCCTGCAT
UGT2B10_E2_R	TGCTTTACCCACCTACTTCC
UGT2B10_E3_F	CCCTGACTACAATGTAATAGCTCCT
UGT2B10_E3_R	CTCAAGTTCCCTTTTGTGGA
UGT2B10_E4_F	TGTGGTTATTCTTTTGCATCA
UGT2B10_E4_R	TTCTTTTCCCCTAGGACTGGA
UGT2B10_E5_F	TTCAAGCCTTTCATTGTGC
UGT2B10_E5_R	AAAAAGGATGAAACTCATGCTCA
UGT2B10_E6_F	GAAAAGTCCAATTTAAAGCCAAA
UGT2B10_E6_R	TGTTTTCTTCATTGCCACAGA

UGT2B17	Primer Sequence (5'-3')
UGT2B17_P_F	ACTGAGCTGCATCAGCAGAA
UGT2B17_P_R	TGGTTGCCTAGGGTAGGATG
UGT2B17_E1F1_F	TCCCATAAAAAACACTATCTTCTGACA
UGT2B17_E1F1_R	GAATTGTGTTGGGAATATTCTGACT
UGT2B17_E1F2_F	GGAACAGAAATCCTCCACCA
UGT2B17_E1F2_R	GCTCTGGGAGTTGTGGAAG
UGT2B17_E1F3_F	TGAAATACTATATGTCCATCTATCGAA
UGT2B17_E1F3_R	AAAAGAACACCAACACACTAAAA
UGT2B17_E2_F	TTGTGGGTTGACAATGAAG
UGT2B17_E2_R	TTCCAAGTCCTTTCAGGAAAAT

UGT2B17_E3_F	GCAGTTAAATTTTCAGGCAGAAC
UGT2B17_E3_R	TTGTTTCATTCTTCCTTACACACA
UGT2B17_E4_F	TGTAACAAAATGCCAATACCA
UGT2B17_E4_R	TGTGGGTATTACGCTTACCTCAG
UGT2B17_E5_F	CAAAGGGTTCAAACCTCATATTCA
UGT2B17_E5_R	GGAACAGTTTGTCTTAAAGTTCC
UGT2B17_E6_F	GTTTGTGTCGAGGAAAAAGG
UGT2B17_E6_R	AATCACTTGTGTGGCGCTTT

C. 연구 결과

1) 유전자 분석

a. Database

UGT allele의 nomenclature는 다음 database를 일차 참조함:

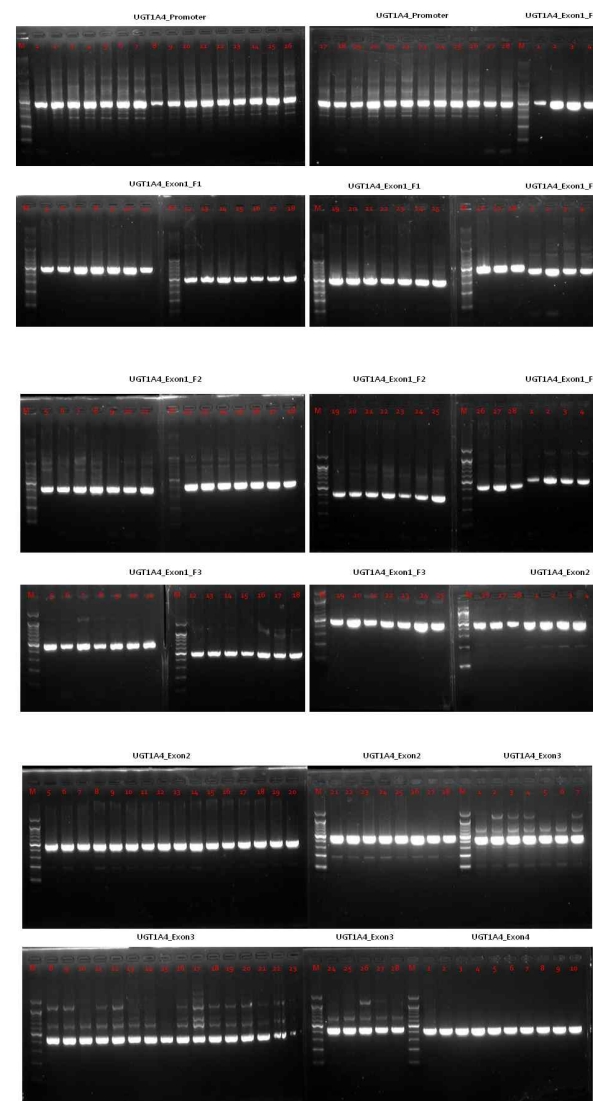
http://www.pharmacogenomics.pha.ulaval.ca/cms/site/pharmacogenomics/ugt_alleles

Table 2. UGT1A4 allele database

Allele naming	Protein	Nucleotide change	Amino acid change	Effect	Enzyme activity	In vivo	Genbank	References
UGT1A4*1a	UGT1A4.1	Reference sequence AF220293		Wild-type	Normal	Normal	AF220293	
UGT1A4*1b	UGT1A4.1	471(C>T)	C ¹⁰⁰ C	Silent			N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*1c	UGT1A4.1	-219(C>T)-163(G>A)486(T>C)604(G>A)1481(V>I)+43(C>T)	L ⁵⁸ P ³⁶				N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*1d	UGT1A4.1	IVS1+101(G>T)	P ³⁴ P	Silent			N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*1e	UGT1A4.1	30(G>A)	N ¹⁰ N	Silent			N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*1f	UGT1A4.1	357(T>C)	N ¹¹⁹ N	Silent			N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*1g	UGT1A4.1	-217(T>G)					N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*1h	UGT1A4.1	-36(G>A)					N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*1i	UGT1A4.1	IVS1+98(A>G)					N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*2	UGT1A4.2	70(C>A)	P ²⁴ T		Substrate-dependent	(Ehmer et al., 2004; Wiener et al., 2004)	N/A	Wiener D, 2004
UGT1A4*3a	UGT1A4.3	-219(C>T)-163(G>A)142(T>G)	L ⁵⁸ V				N/A	Wiener D, 2004
UGT1A4*3b	UGT1A4.3	142(T>G)	L ⁵⁸ V		Low activity	(Ehmer et al. 2004)	N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*4	UGT1A4.4	31(C>T)	R ¹⁰ W	Frameshift - early stop codon			N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*5	UGT1A4.5	127delA/142(T>G)	43fsX22	Frameshift - early stop codon			N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*6	UGT1A4.6	175delG/325(A>G)	59fsX6	Frameshift - early stop codon			N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*7	UGT1A4.7	-219(C>T)-163(G>A)142(T>G)271(C>T)414(T>C)604(G>A)1481(V>I)+43(C>T)	R ¹⁰ W ³⁶ L ⁵⁸ P ³⁶				N/A	Saeki M, 2005
UGT1A4*8	UGT1A4.8	IVS1+1(G>T)		Splicing defect			N/A	Saeki M, 2005

b. PCR 및 Sanger sequencing에 의한 유전자 염기서열분석

UGT1A4 PCR Result



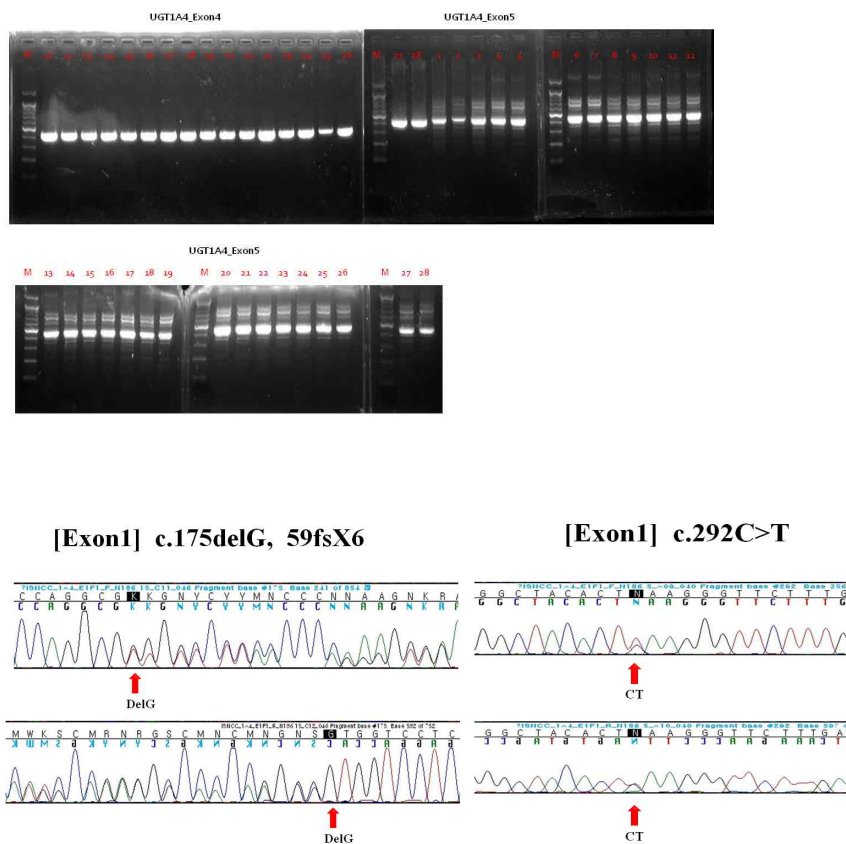


Figure 2. Examples of PCR amplification and detection of sequence variation for the UGT genes.

c. 정상인군에서의 UGT 유전자 분석

Table 3. Sequence variation found in Korean population in this study

Gene	Sequence variation	Amino acid change	Allele frequency in normal population (%)
UGT1A4 (NM_007120.2)	c.30G>A	p.P10=	0.8
	c.31C>T	p.R11W	0.5
	c.142T>G	p.L48V	13.9
	c.162A>T	p.R54S*	0.8
	c.173C>T	p.A58V	0.3
	c.175delG	p.V59WfsX7	0.3
	c.804G>A	p.P268=	12.3
	c.1094C>T	p.P365L	1.3
	c.1494C>T	p.A498=	0.3
	c.1459T>G	p.Y487D	0.3
	c.1473C>T	p.D491=	0.6
	c.69C>T	p.A23=	0.3
	c.588G>T	p.G196=	2.4
	c.-161T>C	promoter	68.4
UGT1A9 (NM_021027.2)	c.-125T>C	promoter	6.4
	c.155A>T	p.E52V*	0.5
	c.175T>A	p.S59T*	0.5
	c.211G>T	p.A71S	10.3
	c.372A>G	p.R124=	18
	c.735A>G	p.T245=	5.3
	c.801A>T	p.P267=	61.4
	c.802T>C	p.Y268H	61.4
	c.1059C>G	p.L353=	67.9
	c.1062C>A	p.Y354=	6.1
	c.1324G>A	p.V442I	0.5
	c.1569A>T	p.A523=*	0.5
	c.84G>T	p.W28C*	0.3
	c.573C>T	p.S191=	0.3
UGT2B10 (NM_001075.4)	c.776A>T	p.N259I*	0.3
	c.845A>G	p.K282R*	0.3
	c.847C>G	p.P283A	3.9
	c.861A>G	p.L287=*	0.3
	c.1035C>G	p.A345=	4.6
	c.1441A>G	p.N481D	0.3
	c.1558A>G	p.R520G	4.9

* Novel sequence variation

d. 환자군에서의 UGT 유전자 분석

Table 4. UGT1A4 sequence variation found in esophageal cancer patients

Gene	Sequence variation	Amino acid change	Allele frequency in patients
UGT1A4 (NM_007120.2)	c.8G>C	p.R3T*	0.2
	c.30G>A	p.P10=	1.1
	c.31C>T	p.R11W	0.7
	c.142T>G	p.L48V	13.3
	c.150G>C	p.E50D	0.5
	c.159C>G	p.A53=	0.5
	c.175delG	p.V59WfsX6	0.2
	c.292C>T	p.Q98X*	0.7
	c.448T>C	p.L150=	8.3
	c.471T>C	p.C157=	84.2
	c.804G>A	p.P268=	15.4
	IVS1+43C>T	intronic variant*	12.2
	IVS2+15T>C	intronic variant	5.0
	IVS2+18C>T	intronic variant	0.2
	IVS3-82T>C	intronic variant*	1.8
	c.1059T>C	p.V353=	0.2
	c.1094C>T	p.P365L	0.7
	c.1145G>A	p.S382N*	0.2
	c.1210C>T	p.R404C*	0.2
	c.1218G>A	p.E406K*	0.5
	c.1362T>G	p.Y454D	0.5
	c.1459T>G	p.Y487D	0.2
	c.1494C>T	p.A498=	0.2

* Novel sequence variation

Table 5. UGT2B7 sequence variation found in esophageal cancer patients

Gene	Sequence variation	Amino acid change	Allele frequency in patients
UGT2B7 (NM_001074.2)	c.211G>T	p.A71S	5.9
	c.469A>G	p.G157S*	4.5
	c.549T>C	p.H183=	4.1
	c.801A>T	p.P267=	51.8
	c.802T>C	p.Y268H	51.8
	c.1059C>G	p.L353=	53.2
	c.1062C>T	p.Y354=	4.3

* Novel sequence variation

Table 6. UGT2B10 sequence variation found in esophageal cancer patients

Gene	Sequence variation	Amino acid change	Allele frequency in patients
UGT2B10 (NM_001075.4)	c.274T>C	p.L92=	1.6
	c.403C>G	p.L135V*	0.9
	c.482A>C	p.E161A*	1.8
	c.512A>T	p.H171L*	1.6
	IVS1+16A>G	intronic variant	100.0
	IVS1+100G>A	intronic variant	79.6
	c.847C>G	p.P283A	3.8
	IVS2+59G>C	intronic variant	79.9
	IVS3-24G>A	intronic variant	61.5
	IVS3-1C>A	intronic variant	79.6
	c.1035C>G	p.A345=	5.0

* Novel sequence variation

Table 7. UGT2B17 sequence variation found in esophageal cancer patients

Gene	Sequence variation	Amino acid change	Allele frequency in patients
UGT2B17 (NM_001077.3)	c.1312C>T	p.P438S*	12.7
	c.1152C>T	p.A384=	3.6
	c.1065G>A	p.Y355=	4.1
	c.866G>A	p.G289R*	4.1

* Novel sequence variation

3. 연구결과 고찰 및 결론

본 연구를 통해, 정상 한국인 군에서의 UGT1A4, 1A9, 2B7, 2B10, 2B17의 minor allele frequency가 규명되었다 (Table 3). 검출된 주요한 minor allele은 다음과 같았다: UGT1A4*1e (allele frequency 0.8); UGT1A4*4 (0.5%); UGT1A4*3b (13.9%); UGT1A4*6 (0.3%); UGT1A9*3 (9.3%) 또한 본 연구는 정상 한국인 군에서 기보고 없는 sequence variation 다수를 검출하여, UGT 유전자 군의 allele 및 서열정보를 확장하는 데에 기여하였다.

본 연구를 통해, 식도암 환자군에서의 UGT1A4, 1A9, 2B7, 2B10, 2B17 유전자의 서열 변이 현황을 규명하였다. 정상 한국인 군에서는 발견되지 않았으나, 식도암 환자군에서 검출된 서열 변이는 모두 missense substitution이었으며, in silico prediction에서 단백질 기능에 영향을 미칠 가능성이 있을 것으로 예측되었다: UGT1A4:c.8G>C, p.R3T; UGT1A4:c.1145G>A, p.S382N; UGT1A4:c.1210C>T, p.R404C; UGT1A4:c.1218G>A, p.E406K; UGT2B7:c.469A>G, p.G157S; UGT2B10:c.403C>G, p.L135V; UGT2B10:c.482A>C, p.E161A; UGT2B10:c.512A>T, p.H171L; UGT2B17:c.1312C>T, p.P438S; UGT2B17:c.866G>A, p.G289R. 따라서 본 연구는 식도암 환자군에서 호발하는 유전자형을 일차로 규명하였으며, 상기 각종 유전자형을 갖는 단백질에 대한 세포 및 생체 내에서의 구조적 변화, 양적 변화 및 질적 효소활성도 차이를 규명하는 것이 식도암의 병인 및 유전자형의 영향을 평가하기 위해 후속 연구로서 필요하겠다.

4. 연구성과 및 목표달성도

(1) 연구성과

가. 국내 및 국제 전문학술지 논문 게재 및 신청

해당없음

나. 국내 및 국제 학술대회 논문 발표

논문명	저자	학술대회명	지역 ¹⁾	지원과제번호
Study for genetic susceptibility to esophageal cancer in relation to metabolism of carcinogens	Seong MW 외	American Association for Clinical Chemistry	국외	0910270

다. 산업재산권

해당없음

라. 저 서

해당없음

마. 연구성과의 정부정책 기여

해당없음

바. 기타연구성과

(2) 목표달성도

가. 연구목표의 달성도

구분	세부연구목표	가중치(%)	평가의 착안점 및 척도
1차년도 (2009)	종양은행 등록된 환자에 대한 유전자 분석	70	100%
	환자 100명 등재	30	100%
2차년도 (2010)	1차년도 등재된 환자에 대한 유전자분석	70	100%
	환자 100명 등재	30	30%
3차년도 (2011)	2차년도 등재된 환자에 대한 유전자분석	100	80%
	환자 80명 등재		10%

나. 평가의 착안점에 따른 목표달성도에 대한 자체평가

평가의 착안점	자 체 평 가

5. 연구결과의 활용계획

(1) 연구종료 2년후 예상 연구성과

구 분	건 수	비 고
학술지 논문 게재	1	Clin Genet (IF ~3)
산업재산권 등록	0	
기 타	0	

(2) 연구성과의 활용계획

- 흡연 관련 식도암의 유전적 소인을 규명함으로써 식도암 고위험군의 효율적인 선별 전략 수립에 도움이 될 것으로 기대됨. 이를 통해 식도암 고위험군 선별키트 개발, 국가 조기검진의 이용 등 다양한 응용이 가능할 것임. 식도암 발생과 연관된 강력한 유전적 소인이 발견되는 경우 이를 이용하여 식도암의 조기 발견과 사망률 감소에도 도움이 될 수 있을 것임.
- 환자군 뿐 아니라 정상대조군에서 N-glucuronidation 및 O-glucuronidation 대사 관련 유전자의 한국인 유전형 DB를 구축함으로써 향후 흡연과 관련된 다른 종양의 연구에도 기초 자료로 쓰일 수 있음.

6. 참고문헌

PMID 17674367: Genetic polymorphisms and esophageal cancer risk. Int J Cancer 2007

PMID 17450141: A six-nucleotide insertion-deletion polymorphism in the CASP8 promoter is associated with susceptibility to multiple cancers. Nat Genet 2007

PMID 18502691: Association of interleukin-6 (-174G>C) promoter polymorphism with risk of squamous cell esophageal cancer and tumor location: an exploratory study. Clin Immunol 2008

PMID 17944566: Inflammation and lung carcinogenesis: applying findings in prevention and treatment. Expert Rev Anticancer Ther 2007.

PMID 18238858: Chen et al. Drug Metab Dispos 2008

PMID 18569591: Head and neck squamous-cell cancer and its association with polymorphic enzymes of xenobiotic metabolism and repair. JTEHA 2008

PMID 18218609: Adverse birth outcomes associated with maternal smoking and polymorphisms in the N-Nitrosamine-metabolizing enzyme genes NQO1 and CYP2E1. AJE 2008

PMID 18199719: Sequence variants of NAT1 and NAT2 and other xenometabolic genes and risk of lung and aerodigestive tract cancers in Central Europe. CEBP 2008

PMID 17989146: Correlation between biomarkers of human exposure to genotoxins with focus on carcinogen-DNA adducts. Mutagenesis 2008

PMID 17183062: The molecular epidemiology of lung cancer. Carcinogenesis 2008

Robertson EV, et al. Genetics of gastroesophageal cancer: paradigms, paradoxes, and prognostic utility. Am J of Gastroenterology

Zhang HY, et al. Esophageal adenocarcinoma arising in Barrett esophagus. Cancer Letters 2008

7. 첨부서류

해당없음