

## 자궁경부암에 있어서 Cyclin 유전자의 발현

계명대학교 의과대학 산부인과학교실·미생물학교실\*

조준형·차순도·이태성·조치홍·백원기\*·서성일\*·서민호\*

=Abstract=

### Expression of Cyclin Genes in Cervical Carcinomas

Jun Hyung Cho, M.D.,

Soon Do Cha, M.D., Tae Sung Lee, M.D., Chi Heum Cho, M.D.,

Won Ki Baek, M.D.,\* Seong Il Suh, M.D.,\* Min Ho Suh, M.D.\*

*Department of Obstetrics and Gynecology, Microbiology,\**

*School of Medicine, Keimyung University, Taegu, Korea*

Human papillomavirus(HPV) infection is one of the common sexual transmitted infections in Korea, and evidence that HPV plays a central role in the development of cervical cancer and its precursors is growing. HPV is a small, double stranded, non-enveloped DNA virus that infects epithelial cells, replicates within their nuclei, and causes hyperproliferative lesions. HPV type 16 and 18 are most strongly associated with high-grade lesion and cancer of the cervix. HPV DNA is integrated into the genome of the host cell in most invasive cancers. Integration usually results in disruption of the viral transcriptional regulatory circuit, which may facilitate cell proliferation by allowing deregulated expression of the viral oncogenes E6 and E7. The high risk HPV E6 protein can form complex with tumor suppressor protein p53 and facilitate the rapid degradation of p53 via the ubiquitin dependent proteolytic system. The high risk E7 protein binds pRB related proteins and then displaces E2F like transcription factors from pRB related proteins. By inactivating p53 and pRB, HPV can induce proliferation of infected cells.

In order to elucidate the association between HPV infection and the expression of cyclin genes in cervical cancers, we studied the prevalence of HPV infection and the expression level of cyclin genes(cyclin A, B, C, D1 and E) in nine cervical cancer samples.

The presence of HPV infection was examined by RT-PCR and restriction enzyme analysis. HPV was detected in all cases(9/9); HPV type 16 was detected in 6 cases, HPV type 18 in 2 cases and an unknown type was detected in one case. The expression level of cyclin genes were evaluated by semiquantitative RT-PCR method. Expression of examined cyclin genes(cyclin A, B, C, D1 and E) were increased in all cancer tissues, and cyclin B and C expression were remarkably increased. There are no differences of expression levels of cyclins depending on infected HPV types.

---

Key Words : Cyclin, Cervical cancer, Human papillomavirus.

## I. 서 론

자궁경부암의 발생은 명백하지는 않으나 현재까지 많은 연구결과들에 의해 인유두종바이러스(human papilloma virus, 이하 HPV라 함)가 자궁경부암의 중요한 원인인자로 생각되고 있다. HPV는 상피세포에 감염되어 세포의 핵안에서 복제되며 세포과다증식병변을 나타내는 small double-stranded, nonen-capsulated virus로서 현재까지 염기서열분석에 의해 약 70가지 형이 알려져있다(Adimora & Quinlivan, 1995).

HPV와 자궁경부암의 인과관계를 보여주는 많은 연구들이 최근에 보고되고 있으며 특히 역학적 연구에서 2년이상 경도의 자궁경부이형증이 있는 환자군 중에서 고도이형증으로 진행된 환자 중 85 %가 HPV-16, 18에 감염되어 있으며(Campion et al., 1986) 또한 HPV-16, 18의 자궁경부감염이 있는 여성군에서 비감염군보다 11배나 높은 고도이형증의 발생율을 보이는 것으로 보고되고 있다(Koustky et al., 1992). 역학적 연구와 더불어 많은 실험연구 결과들도 이러한 인과관계를 지지하고 있다. 자궁경부암의 약 90%에서 고위험군 HPV(type 16, type 18)의 DNA가 검출되며(zur Hausen, 1991), 경도의 자궁경부 상피내종양에서 HPV가 유전자 부체(episome) 상태로 존재함에 비하여 대부분의 침윤성 자궁경부암에서는 HPV의 유전자가 세포의 염색체에 integration되어 있다(Durst et al., 1985). HPV 유전자가 세포의 염색체에 integration될 때에는 대부분 전사조절부위는 결실되고 HPV의 early gene인 E6, E7 유전자는 선택적으로 보존되어 E6, E7 유전자의 비조절적 발현이 일어난다(Baker et al., 1987). E6, E7 단백질은 세포의 세포주기조절 및 apoptosis에 매우 중요한 인자인 p53, pRB 단백과 결합하여 기능소실을 유도한다. p53 단백은 cyclin dependent kinase(CDK)-cyclin 복합체의 기능을 억제하는 p21<sup>WAF1</sup>의 전사인자로서 E6 단백에 결합되면 ubiquitin-dependent proteolysis에 의해 파괴되며(Foster et al., 1994 ; Thomas et al., 1995) E7 단백은 pRB 단백과 결합하여 E2F-related protein의 pRB와의 결합을 방해한다(Pagano et al., 1992 ; Slebos et al., 1994). 결국 세포의 G1기에서 S기로의 전이를 억제하는 이러한 p53 및 pRB의 기능소실은 세포주기의 활성화

를 유도하게 되어 암화에 중요한 역할을 하게된다.

세포의 분열은 G1, S, G2, M 기로 구성되는 일련의 과정 즉 세포주기를 거쳐 이루어지며 최근에 와서 세포분열주기를 조절하는 유전자들이 많이 밝혀지고 있다. Cyclins과 cyclin dependent kinases(CDKs)는 세포분열주기 조절 인자들로서 cyclin은 세포 분열주기의 각 주기에서 발현이 특이적으로 증가했다가 감소하며 CDK들과 결합하여 세포주기조절에 관여하는 것으로 알려졌다. 인체세포의 cyclin들은 A type, B type, G1 cyclins(C, D1-D3, E) 등이 밝혀져 있다(Lock & Wickramasinghe, 1994). Cyclin A는 DNA 합성 시작직전부터 출현하여 prophase까지 증가하다가 metaphase에 소멸되며, CDK2와 결합한다. Cyclin B은 S기 후반부터 증가하기 시작하여 metaphase에 갑자기 소멸되며 p34<sup>cdk2</sup>와 결합하고, cyclin C는 G1기 중반부에서 발현된다고 알려져 있다. D type cyclin은 D1-D3가 있으며 이 중 D1은 G1기 후반부에 가장 발현이 증가하며 CDK2, C-CDK4, CDK5와 결합하여 G1-S 전이에 관련된다고 생각되고 있다. Cyclin E는 G1기 중반부터 증가하여 G1기 후반/S기 초반에서 가장 많은 발현이 이루어지며 CDK2와 결합하는 것으로 알려져 있다(Motokura & Arnold, 1993). 이러한 cyclin들의 암화과정과의 관련성은 여러가지 측면에서 연구되고 있다(Hunter & Pines, 1991 ; Bartek et al., 1993 ; Gong et al., 1994 ; Hartwell & Kastan, 1994 ; Lukas et al., 1994 ; Morisaki et al., 1994). 현재 많은 암유전자들이 성장인자(growth factor)와 세포주기를 연결하여 세포분열기전을 자극하는 신호전달계의 구성원으로 밝혀졌으며, 항암유전자들은 세포주기조절기전을 통하여 세포분열을 억제함으로서 발암을 억제한다고 밝혀지고 있다(Marx, 1994). 또한 특히 몇 종류의 암에서는 cyclin 유전자의 구조적 변화나 과발현이 암화와 관련이 있는 것으로 밝혀져 현재 cyclin을 암유전자로 보고 있기도 하다. 이러한 예로서는 간암, 부갑상선선종(parathyroid adenoma), 유방암 등을 들 수 있다. 간암에서는 B형 간염바이러스가 염색체의 cyclin A 유전자 부위에 integration되어 있음을 보고한 예가 있으며(Wang et al., 1990), 부갑상선 선종에서는 유전자재배열에 의해 부갑상선 호르몬 유전자(PTH gene)와 연결되어 암을 유발한다고 알려졌던 PRAD1(parathyroid adenoma 1 ge-

ne) 유전자가 cyclin D1 유전자임이 밝혀졌다(Motoruk et al., 1991). 유방암에서는 cyclin E 유전자의 증폭과 발현증가가 발암과 관계가 있음이 보고되어 있다(Keyomarsi & Pardee, 1993; Thomas & Thomas, 1994; Keyomarsi et al., 1994). 또한 자궁경부암 세포주에서 cyclin D1의 과발현과 유전자 재배열도 보고된 바 있으며(Kurzlock et al., 1995) 생쥐의 섬유아세포인 NIH 3T3 cell에 HPV E7 유전자 transfection시 cyclin E와 cyclin A 유전자의 발현증가 유도됨도 보고되어 있다(Zerfass et al., 1995).

저자는 자궁경부암에서 HPV 감염의 정도를 파악하고 cyclin 유전자들의 발현이상을 조사하며 또한 HPV감염과 cyclin 유전자발현과의 관계를 조사하기 위하여 자궁경부암 환자에서 분리한 조직에서 RNA를 분리하여 역전사 중합효소연쇄반응(Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) 방법으로 HPV typing과 cyclin mRNA의 반정량적 분석을 시행하였다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 실험대상

제명대학교 동산의료원 산부인과에서 1995년 10월에서 1996년 3월까지 진료받은, 과거에 치료받은 병력이 없는 자궁경부암 환자의 암조직과 정상조직을 액체질소에 보관한 후 RNA를 분리하여 전기영동으로 18S 및 28S rRNA를 보아 RNA가 파괴되지 않았음을 확인한 9예의 환자조직 RNA를 대상으로 실험하였다.

### 2. RNA 분리

조직은 100 mg에 RNazol B(Biotex Laboratories, Inc.)를 2 ml 넣고 homogenizer로 15,000 rpm에서 3분정도 조직을 파쇄시키고, 조직용해액 2 ml당 0.2 ml의 chloroform을 넣고 15초간 잘 혼합하고 4°C에 5분간 두었다. 이것을 12,000 rpm, 4°C로 15분 원심하여 상층액을 새 tube로 옮긴 후 동량의 2-propanol을 넣고 -70°C에 2시간 방치하였다. 이를 12,000 rpm에서 4°C로 15분 원심하여 RNA침사를 얻은 후 75% cold 에탄올로 세척하고 seedvac concentrator(Savant Co, U.S.A.)에서 5분간 건조시킨 다음 여기에 diethyl pyrocarbonate(DEPC) 처리된 증류수 100

$\mu$ l를 넣어 녹인후 UV 분광광도계로 농도 및 순도를 측정하고 -70°C에 보관하였다(Chomczynski & Sacchi, 1987).

### 3. cDNA 합성

분리된 RNA 4  $\mu$ g을 oligo dT(16mer)를 사용하여 40  $\mu$ l 용량으로 역전사(reverse transcription)를 시행하였다. 반응혼합액의 조성은 RNA 4  $\mu$ g, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl(pH 8.3), 1 mM dATP, 1 mM dTTP, 1 mM dCTP, 1 mM dGTP, 1 U/ $\mu$ l RNase inhibitor(Perkin-Elmer Corporation), 2.5 U/ $\mu$ l MuLV reverse transcriptase (Perkin-Elmer Corporation), 2.5  $\mu$ M oligo d(T)<sub>16</sub>로, 반응조건은 42°C 1시간, 99°C 5분, 5°C 5분으로 하였다.

### 4. HPV 감염여부 및 형별검색을 위한 PCR

역전사된 반응물 1  $\mu$ l를 사용하여 50  $\mu$ l의 PCR을 시행하여 HPV 감염여부 및 형별검사를 시행하였다. 3종류의 PCR 시발체(primer)를 Toh et al.(1992)에 따라 제작하여 사용하였다. 암발생과 연관이 있다고 알려진 고 위험도 HPV형인 16형, 18형, 31형, 33형, 52b형, 58형 등의 E6/E7의 open reading frame(ORF)를 증폭하기 위해서 5' TGTCAAAAACCGTT-GTGTCC3' (CP-1) 및 5' GAGCTGTCGCTTAATTGCTC3' (CP-2)를 사용하였으며, HPV16형의 E7 ORF를 선택적으로 증폭하기 위해서는 5' GCAAC-CAGAGACAACGTGATC3' (SP16-1) 및 5' ATTG-TAATGGGCTCTGTCCG3' 을 사용하였으며 그리고 HPV18형의 E7 ORF를 선택적으로 증폭하기 위해서 5' TCACGAGCAATTAAGCGACT3' 및 5' CTG-AGCTTCTACTACTAGC3' 을 사용하였다. CP-1 및 2로 증폭된 PCR 산물은 제한효소 Avall에 의해서 HPV16형(157 및 81 bp), HPV18형(172 및 96 bp), 그리고 HPV33(136 및 108 bp)이 구별되며, RsaI에 의해서는 HPV31형(119 및 114 bp), BglII에 의해서는 HPV52b(175 및 55 bp), 그리고 AccI에 의해서는 HPV58형(126 및 118 bp) 등의 형별을 알 수 있다. HPV16 및 18의 양성대조군으로 Caski 및 HeLa 세포주의 DNA를 이용하였다(Fujinaga et al., 1991).

### 5. mRNA의 반정량적 분석을 위한 PCR

PCR은 10X reaction buffer(15 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 mM Tris-HCl pH 8.3, 500 mM KCl) 5 μl와 10 mM dATP, dTTP, dCTP, dGTP 각 1 μl씩, 0.25 uCi의 alpha-32P dCTP 그리고 30 μM sense 및 antisense primer(Table 1)를 각각 1 μl를 넣은 mixture에 1 μl의 반응시킨 cDNA 반응혼합물과 2.5 unit의 Taq polymerase(Perkin Elmer Corporation)를 넣은 후 중류수로 50 μl로 용량을 맞추고 30 μl의 광유(mineral oil)을 증층한 후 DNA thermal cycler(Perkin Elmer corporation)를 사용하여 PCR을 시행하였다. DNA denaturation은 95°C 1분, annealing은 60°C 1 분, extension은 72°C 2분으로 하여 GAPDH 유전자 증폭을 위해서는 22 cycle, cyclin A, B, C, D1, E 유전자들의 증폭을 위해서는 28 cycle을 시행하였다. 증폭된 PCR 산물 10 μl를 5% polyacrylamide gel

에 전기영동한 후 X선필름에 15시간 감광시킨 후 현상하였다. 현상된 필름의 band는 GS 300 scanning densitometer(Hoefer Scientific Instruments)를 사용하여 농도를 측정하였다.

### III. 결 과

분리한 RNA를 전기영동하여 18S 및 28S rRNA band를 보아 파괴되지 않은 자궁경부암 RNA 9례와 정상 자궁경부조직의 RNA를 역전사(reverse transcription)하여 생성한 cDNA로 실험을 시행하였다.

HPV의 감염과 형별검사를 위하여 HPV형 16, 18, 31, 33, 52b, 58의 E6/E7 ORF를 증폭할 수 있는 일치 시발체(consensus primer)를 사용하여 RT-PCR 을 시행한 후 이를 제한효소 Avall, RsaI, BglIII, Ac-

Table 1. PCR primers

Genes		Sequences					Product size[bp]
<b>Cyclin genes</b>							
Cyclin A	Sense	5'	CAGAA	TGAGA	CCCTG	CATTT	GGCTG 3'
	Antisense	5'	CAGAT	TTAGT	GTCTG	TGGTG	GGTTG 3'
Cyclin B	Sense	5'	CCATT	ATTGA	TCGGT	TCATG	CAGA 3'
	Antisense	5'	CTAGT	GGAGA	ATTCA	GCTGT	GGTA 3'
Cyclin C	Sense	5'	CCTGT	ATTAA	TGGCT	CCTAC	ATGTG TG 3'
	Antisense	5'	GGTTG	CCATC	TCTTT	TCTCT	CATCG A 3'
Cyclin D1	Sense	5'	ACCTG	GATGC	TGGAG	GTCTG 3'	402
	Antisense	5'	GAACT	TCACA	TCTGT	GGCAC A 3'	
Cyclin E	Sense	5'	GGAAG	GCAAA	CGTGA	CCGTT 3'	638
	Antisense	5'	GGGAC	TTAAA	CGCCA	CTTAA 3'	
GAPDH	Sense	5'	CGTCT	TCACC	ACCAT	GGAGA 3'	300
	Antisense	5'	CGGCC	ATCAC	GCCAC	AGTTT 3'	
<b>HPV</b>							
CP	Sense	5'	TGTCA	AAAAC	CGTTG	TGTCC 3'	
	Antisense	5'	GAGCT	GTCGC	TTAAT	TGCTC 3'	
SP16	Sense	5'	GCAAC	CAGAG	ACAAAC	TGATC 3'	115
	Antisense	5'	ATTGT	AATGG	GCTCT	GTCCG 3'	
SP18	Sense	5'	TCACG	AGCAA	TTAAG	CGACT 3'	158
	Antisense	5'	CTGAG	CTTTC	TACTA	CTAGC 3'	

cl으로 절단하여 절단분절의 크기를 비교하여 형별 검사를 시행한 결과, 9례 모두에서 HPV 감염이 있는 것으로 나타났으며 6례는 HPV 16형, 2례는 HPV 18형, 나머지 1례는 이 실험법으로 검출할 수 있는 HPV 16, 18, 31, 33, 52b, 58형 이외의 HPV 였다. HPV 16형, HPV 18형에 특이한 primer인 SP16 primer와 SP18 primer로 다시 RT-PCR로 검사하여 위의 결과가 확인되었다(Fig. 1). 자궁경부암 조직 RNA 9례와 HPV의 감염이 없음을 확인한 정상 자궁조직 RNA 1례를 사용하여 cyclin A, B, C, D1, E 유전자의 발현에 대한 반정량적 RT-PCR을 시행

Fig. 1. HPV typing of clinical samples. 2  $\mu$ g carcinoma RNAs were reverse transcribed with oligo-dT[16mer] primer. The reverse transcribed cDNAs were amplified using CP-1/CP-2 primer pair (A) and digested with Ava II (B), Acc I and Rsa I (C). And the cDNAs were amplified using HPV type 16, 18 specific primer pairs[SP-1/SP16-2, SP18-1/SP18-2](D). M, 100 bp ladder size marker; 1, specimen 1 : 2, specimen 7.

하였다(Fig. 2). 증폭된 RT-PCR 산물을 polyacrylamide gel로 전기영동하여 X-선필름에 노출하여 얻은 autoradiogram을 densitometer로 분석하여 cyclin 각각의 농도를 densitometer로 분석하여 GAPDH의 농도를 대조군으로 하여 보정한 후 정상자궁경부의 cyclin 발현양과의 비율로 계산하였다(Table 2). Cyclin A, B, C, D1, E는 실험한 자궁경부암조직 모두에서 정상 자궁경부조직 보다 전반적으로 모두 증가한 것으로 나타났으며, cyclin B와 C의 발현증가가 뚜렷하였다. 감염된 HPV 형별에 따른 의미있는 발현정도의 차이를 발견할 수 없었다.

Table 2. Ratio of expression of cyclin genes<sup>1</sup>

Tissue samples <sup>2</sup>	Gene				
	Cyclin A	Cyclin B	Cyclin C	Cyclin D1	Cyclin E
1	1	6.4	6.8	2.4	4.3
2	1.1	7.3	11.9	2.8	5.2
3	1.7	7.6	11.2	2.6	6.4
4	1	6.7	8.4	— <sup>3</sup>	4.7
5	6.3	6.3	—	1.5	3.2
6	2.4	6.1	10.9	2.4	4.8
7	1.2	5.1	6.1	2.1	4.1
8	1.6	4.3	5.9	1.7	3.5
9	1.5	3.7	—	2.5	3.3

<sup>1</sup>The ratios of RT-PCR products of cervical carcinoma tissues to normal cervical tissues were measured by densitometry.

<sup>2</sup>Tissue samples 1-6, HPV 16(+); tissue samples 7-8, HPV 18(+); tissue sample 9, unknown type HPV(+)

<sup>3</sup>Non-tested.

Fig. 2. RT-PCR analysis of cyclin A, B, C, D1, E and GAPDH mRNA expression in normal cervical[lane 1] and cervical carcinoma[lane 2-5] tissues.

#### IV. 고 출

이 연구에서는 자궁경부암에서 HPV의 감염과 세포주기조절 관련 유전자인 cyclin 발현과의 관계를 자궁경부암 환자에서 분리한 조직을 대상으로 RT-PCR법을 사용하여 조사하였다. HPV 감염여부를 조사하기 위하여 RNA를 분리하여 RT-PCR법으로 검사하여 자궁경부암 9례 중 6례에서 HPV 16형, 2례에서 HPV 18형 그리고 나머지 1례에서 HPV 16, 18, 31, 33, 52b, 58형 이외의 다른 HPV형의 감염이 있는 것으로 나타났다. 이 실험에서는 조직에서 분리한 DNA가 아닌 RNA를 사용하여 RT-PCR을 시행하였으며 또한 consensus primer는 E6/E7 ORF를 SPI16, SPI18 primer는 E7 ORF를 표적으로 한 primer이므로 이러한 결과는 감염되었던 HPV에서 암화에 관련이 있는 E6, E7 mRNA가 만들어지며 따라서 암화관련 단백질인 E6, E7이 만들어 지고 있다는 것을 의미하게된다.

검출율은 자궁경부암 조직에서 DNA를 분리하여 PCR로 검출한 다른 실험(Fujinaga et al., 1991)과 검출율이 비슷하였다. HPV는 감염초기나 경도의 상피내종양에서는 episome 상태로 존재하지만 고도 상피내종양이나 침윤성자궁경부암 세포에서는 대부분이 세포의 염색체에 integration되어 있다고 밝혀져 있다(Durst et al., 1985). 이로 미루어 볼 때 실험 대상이 적어서 분명히 말하기는 어렵지만 DNA를 이용한 검출율과 RNA를 이용한 검출율이 비슷하고, 이 실험에서 사용한 조직들이 침윤성암이라는 것을 비추어 볼 때 세포의 염색체에 integration되는 대부분의 HPV는 E6, E7 유전자를 발현한다는 것을 유추할 수 있다.

HPV는 현재까지 알려진 연구결과에 의하면 암을 유발하는 바이러스로 밝혀져있다. 그 발암기전은 정확히 밝혀져 있지않으나 HPV가 발현하는 E6, E7이 실험실적으로 p53, pRB 등과의 상호관계에 의하여 세포주기조절을 교란시킴으로서 암화에 관련되며, p53, pRB 등은 p21, E2F 등을 통하여 세포주기조절 기전에 관여하므로 HPV에 의한 E6, E7 유전자의 발현은 세포주기의 변화를 가져온다(Pagano et al., 1992 ; Foster et al., 1994 ; Slebos et al., 1994 ; Thomas et al., 1995). 이 실험에서 HPV의 감염에 따른 cyclin A, B, C, D1, E의 유전자 발현의 변화를

보기위하여 시행한 반정량적 RT-PCR에서 cyclin A, B, C, D1, E는 실험한 자궁경부암조직 모두에서 정상 자궁경부조직 보다 전반적으로 모두 증가한 것으로 나타났으며, 감염된 HPV 형별에 따른 의미있는 발현정도의 차이를 발견할 수 없었다. 또한 고위험 HPV 감염 암조직과 저위험 HPV 감염 암조직의 비교에서 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 이는 HPV의 감염만으로 암화가 완료되는 것은 아니라 2차적, 3차적으로 유전자 변이가 동반될 때에야 암이 발생한다고 알려져 있음(Munger, 1995)을 미루어 보아 이 실험에서 사용한 것과 같은 침윤성암에서는 HPV E6, E7에 의한 암화기전 단독보다는 다른 유전적 발암기전이 같이 작용하는 것으로 생각된다.

#### V. 결 론

자궁경부암은 한국인 여성암에서 가장 높은 발생빈도를 보이는 암으로 알려져있다. 자궁경부암의 발생은 성교와 관련성이 있다고 추측되고 있으나 정확한 기전은 알려져있지 않으며 다만 최근에 인유두종 바이러스(human papilloma virus)의 감염이 자궁경부암의 발생과 관계가 있다고 알려지고 있다. 이는 HPV 감염시 HPV의 일부 유전자가 세포의 염색체에 삽입되어 HPV의 E6와 E7 단백질을 합성하게 되는데, 이들이 세포내의 p53와 RB 단백에 결합하여 기능의 소실을 가져온다는 여러 실험결과들에 근거를 두고 있다. p53과 RB 단백은 cyclins, cyclin dependent kinases(CDKs), CDK inhibitors(CKIs) 등과 더불어 세포주기조절 기전에서 아주 중요한 단백질로서 이들의 이상은 결국 세포주기조절 기전의 이상을 야기하여 암발생을 유도할 수 있다. 특히 cyclin은 세포주기의 각 기에서 특이하게 발현되는 단백으로서 유방암, 식도암, 대장암 등에서 발현이상이 보고되어 있다.

이 실험에서는 한국인 자궁경부암에서 HPV 감염과 cyclin 유전자의 발현이상을 조사하기 위하여 자궁경부암 생검조직 9례를 대상으로 RT-PCR 및 제한효소분석(restriction enzyme analysis)로 HPV 감염여부를 조사하고, 반정량적 RT-PCR법으로 cyclin 유전자의 발현을 연구하였다. RT-PCR 및 제한효소분석으로 HPV의 감염여부를 실험한 결과 9례 중 9례 모두에서 HPV 감염이 있었으며 이중 6례는

HPV-16, 2례는 HPV-18 이었다. 반정량적 RT-PCR로 cyclin A, B, C, D1, E 유전자의 발현을 조사한 결과, 실험대상 모두에서 정도의 차이는 있지만 대부분 각각의 cyclin 유전자의 발현이 증가되어 있었으나 감염된 HPV 형별에 따른 의미있는 발현정도의 차이를 발견할 수는 없었다. 또한 고위험 HPV 감염 암조직과 저위험 HPV 감염 암조직의 비교에서도 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 이는 HPV의 감염만으로 암화가 완료되는 것은 아니라 2차적, 3차적으로 유전자 변이가 동반될 때에야 암이 발생한다고 알려져 있음을 미루어보아 이 실험에서 사용한 것과 같은 침윤성암에서는 HPV E6, E7에 의한 암화기전 단독보다는 다른 유전적 발암기전이 같이 작용하는 것으로 생각된다.

-References-

- Adimora AA, Quinlivan E. Human papillomavirus infection. Postgrad Med 1995 ; 98(3) : 109.
- Baker CC, Phelps WC, Lindgren V, et al. Structural and transcriptional analysis of human papillomavirus type 16 sequences in cervical carcinoma cell lines. J Virol 1987 ; 61(4) : 962.
- Bartek J, Staskova Z, Draetta G, et al. Molecular pathology of the cell cycle in human cancer cells. Stem Cells 1993 ; 1(suppl 1) : 51.
- Campion MJ, McCance DJ, Cuzick J. Progressive potential of mild cervical atypia : prospective cytological, colposcopic, and virological study. Lancet 1986 ; 2(8501) : 237.
- Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidine thiocyanate-phenol-chloroform extraction. Anal Biochem 1987 ; 162(1) : 158.
- Durst M, Kleinheinz A, Hotz M, et al. The physical state of human papillomavirus type 16 DNA in benign and malignant genital tumors. J Gen Virol 1985 ; 66(7) : 1515.
- Foster SA, Demers GW, Etscheid BG, et al. The ability of human papillomavirus E6 proteins to target p53 for degradation in vivo correlates with their ability to abrogate actinomycin D-induced growth arrest. J Virol 1994 ; 68 (9) : 5698.
- Fujinaga Y, Shimada M, Okazawa K, et al. Simultaneous detection and typing of genital human papillomavirus DNA using the polymerase chain reaction. J Gen Virol 1991 ; 72(5) : 1039.
- Gong J, Ardel B, Traganos F, et al. Unscheduled expression of cyclin B1 and cyclin E in several leukemic and solid tumor cell lines. Cancer Res 1994 ; 54(16) : 4285.
- Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. Science 1994 ; 266(5192) : 1821.
- Hunter T, Ptines J. Cyclins and cancer. Cell 1991 ; 66(6) : 10 71.
- Keyomarsi K, O'Leary N, Molnar G, et al. Cyclin E, a potent-tial prognostic marker for breast cancer. Cancer Res 1994 ; 54(2) : 380.
- Keyomarsi K, Pardee AB. Redundant cyclin overexpression and gene amplification in breast cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA 1993 ; 90(3) : 1112.
- Koushky LA, Holmes KK, Critchlow CW, et al. A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. N Engl J Med 1992 ; 327(18) : 1272.
- Kurzrock R, Ku S, Talpaz M. Abnormalities in the PRAD1(C-YCLIN D1/BCL-1) oncogene are frequent in cervical and vulvar squamous carcinoma cell lines. Cancer 1995 ; 75 (2) : 584.
- Lock LF, Wickramasinghe D. Cycling with CDKs. Trends Cell Biol 1994 ; 4 : 404.
- Lukas J, Pagano M, Staskova Z, et al. Cyclin D1 protein oscillates and is essential for cycle progression in human tumor cell lines. Oncogene 1994 ; 9(3) : 707.
- Marx J. How cells cycle toward cancer. Science 1994 ; 263(5 145) : 319.
- Morisaki T, Uchiyama A, Yuzuki D, et al. Interleukin 4 regulates G1 cell cycle progression in gastric carcinoma cells. Cancer Res 1994 ; 54(4) : 1113.
- Motokura T, Arnold A. Cyclins and oncogenesis. Biochim Biophys Acta 1993 ; 1155(1) : 63.
- Motokura T, Bloom T, Kim HG, et al. A novel cyclin encoded by a bcl-1-linked candidate oncogene. Nature 1991 ; 35 0(6318) : 512.
- Munger K. Host-viral gene interactions in cervical cancer. Contemp OB/GYN 1995 ; 40(4) : 27.
- Pagano M, Durst M, Jowsig S, et al. Binding of the human E2F transcription factor to the retinoblastoma protein but not to cyclin A is abolished in HPV-16-immortalized cells. Oncogene 1992 ; 7(9) : 1681.
- Slebos RJC, Lee MH, Plunkett BS, et al. p53-dependent G1 arrest involves pRB-related proteins and is disrupted by the human papillomavirus 16 E7 oncoprotein. Proc Natl Acad Sci USA 1994 ; 91(12) : 5320.
- Thomas M, Massimi P, Jenkins J, et al. HPV-18 E6 mediated inhibition of p53 DNA binding activity is independent of E6 induced degradation. Oncogene 1995 ; 10(2) : 261.
- Thomas T, Thomas TJ. Regulation of cyclin B1 by estradiol and polyamines in MCF-7 breast cancer cells. Cancer Res 1994 ; 54(4) : 1077.
- Toh Y, Kuwano H, Tanaka S, et al. Detection of human papillomavirus DNA in esophageal carcinoma in Japan by polymerase chain reaction. Cancer 1992 ; 70(9) : 2234.
- Wang J, Chentivesse X, Henglein B, et al. Hepatitis B virus integrated in a cyclin A gene in a hepatocellular carcinoma. Nature 1990 ; 343(6258) : 555.
- Zerfass K, Schulze A, Spitskovsky D, et al. Sequential activation of cyclin E and cyclin A gene expression by human papillomavirus type 16 E7 through sequences necessary for transformation. J Virol 1995 ; 69(10) : 6389.
- zur Hausen H. Human papillomaviruses in the pathogenesis of anogenital cancer. Virology 1991 ; 184(1) : 9.