DBpia

인체대장암의 암유전자와 항암유전자의 분자유전적 특성 및 발현

Molecular Characteristics of Oncogenes and p53 Antioncogene in Korean Colorectal Cancers

저자 (Authors)
백원기, 서성일, 서민호
Won-Ki Baek, Seong-Il Suh, Min-Ho Suh

출처 (Source)
The Journal of the Korean Society for Microbiology 30(6), 1995.12, 727-735 (9 pages)

발행처 (Publisher)
대한미생물학회
The Korean Society For Microblology

URL
http://www.dbpia.co.kr/Article/NODE01486728

APA Style
백원기, 서성일, 서민호 (1995). 인체대장암의 암유전자와 항암유전자의 분자유전적 특성 및 발현. The Journal of the Korean Society for Microbiology, 30(6), 727-735.

이용정보 (Accessed)
계명대학교
203.247.13.27
2016/01/11 11:10 (KST)

저작권 안내
DBpia에서 제공되는 모든 저작물의 저작권은 원저작자에게 있으며, 누리미디어는 각 저작물의 내용을 보증하거나 책임을 지지 않습니다.
이 자료를 원저작자와의 협의 없이 무단게재 할 경우, 저작권법 및 관련법령에 따라 민, 형사상의 책임을 질 수 있습니다.

Copyright Information
The copyright of all works provided by DBpia belongs to the original author(s). Nurimedia is not responsible for contents of each work. Nor does it guarantee the contents.
You might take civil and criminal liabilities according to copyright and other relevant laws if you publish the contents without consultation with the original author(s).

大韓微生物學會誌 第30卷 第6號 1995
J. Korean Soc. Microbiol., Vol. 30, No. 6, 1995

인체대장암의 암유전자와 항암유전자의 분자유전적 특성 및 발현

계명대학교 의과대학 미생물학교실, 의과학연구소[1]

백원기[1] · 서성일[1] · 서민호[1]

= Abstract =

Molecular Characteristics of Oncogenes and p53 Antioncogene in Korean Colorectal Cancers

Won-Ki Baek[1], Seong-Il Suh[1] and Min-Ho Suh[1]

Department of Microbiology and Institute for Medical Science[1], Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

To define the role of cellular oncogenes and tumor suppressor genes in human colorectal cancers, genetic alterations of ras, myc, fos oncogenes and p53 antioncogene in 30 freshly isolated primary colorectal cancer tissues were studied by using various molecular methods. In Southern blot hybridization, modest amplifications of c-myc gene(40%) were found in cancer tissues but no amplification and rearrangement of c-Ha-ras, c-fos and p53 genes were observed. In RNA slot blot analysis, 47% of cases showed significantly elevated expression of c-myc gene and 12% of cases showed modest elevated level of c-Ha-ras gene transcripts. These results suggested that amplification/overexpression of c-myc gene and elevated expression of c-Ha-ras gene were involved in tumor development of Korean colorectal cancers.

Key Words: Colorectal cancer, ras, myc, fos, p53.

서 론

대장암은 우리나라에서 발생하는 10대암 중의 하나이며 장기별 발생빈도에서 위, 자궁경부, 간, 폐에 이어 5번째로 빈번하게 발생하는 암질환의 하나로서 그 발생빈도가 증가하는 추세를 보이고 있으며[28], 현재의 이러한 증가추세는 식생활의 서구화에 기인하는 것으로 생각되고 있다. 섬유질, 육류, 지방, 가공탄수화물 그리고 calcium, vitamine A, C, D, E, selenium 등의 섭취량은 대장암의 발생과 연관이 있으며 이들은 대장관내 환경의 변화를 야기시켜 대장암의 발생을 유도한다고 알려져 있다. 그리고 gastrin, somatostatin 등의 hormone과 insulin like growth factors 등의 growth factor들도 대장암의 발생과 연관이 있는 것으로 추정되고 있다[27].

암질환은 유전자질환으로서 세포분화, 휴지기 세포화, apoptosis(programmed cell death)와 이에 상응하는 세포분열 및 증식 사이의 균형이상으로 발생하며 이는 이들을 조절하는 유전자의 이상에 기인한다. 즉 암발생은 세포의 성장, 분화, 세포주기, 분열기전을 조절하는 중요한 유전자들의 이상으로 유도되며 이러한 유전자들의 이상으로 세포의 이상분열 및 증식이 이루어지면 암이 발생한다. 암발생에 관여하는 유전자들은 암유전자(oncogene), 항암유전자(tumor suppressor gene) 등으로 알려져 있다. 암유전자는 1911년 Rous가 v-src 유전자를 발견함으로서 처음 알려졌으며 이후 정상세포에 존재하면서 비정상적 활성화로 세포의 형질전환(transformation)을 유발할 수 있는 세포성 암유전자(protoonco-

계명대학교 | IP: 203.247.13.27 | Accessed 2016/01/11 11:10(KST)

gene)들이 밝혀졌다[14]. 세포성 암유전자들은 주로 growth factor, growth factor receptor, GTPase, protein kinase, nuclear transcription factor들로서 유전자의 증폭(amplification), 점돌연변이(point mutation), 재배열(rearrangement) 등의 기전으로 비정상적 활성화가 이루어짐으로서 암을 유발한다[19]. 항암유전자의 존재는 cell fusion실험 등으로 제안된 후 Knudson이 retinoblastoma(Rb) gene을 발견함으로서 증명되었으며 Rb gene, p53 gene 등의 항암유전자는 세포주기(cell cycle)조절에 관여하여 비정상적 세포증식을 억제하는 유전자들로서 점돌연변이, 결실 등의 기전으로 비활성화됨으로서 암발생이 유도된다[12]. 일반적으로 암의 발생은 한가지 유전자의 이상으로 발생하는 것이 아니라 각종 암유전자, 항암유전자가 복합적으로, 다단계적으로 관여하여 이루어진다고 생각되고 있다. 또한 유전자 수준에서의 암화과정은 한가지 경로만 존재하는 것이 아니고 여러가지 경로가 있다고 추정되고 있다[6].

근래 유전자 수준에서의 분자생물학적 암발생기전 연구에서 대장암은 많은 연구자들의 중요한 연구대상이 되고 있다. 이는 대장암 환자의 수가 많고 암화과정이 hyperproliferation, adenoma, carcinoma 등의 조직학적 단계를 거치며 또한 familial adenomatous polyposis 등의 유전소인을 가지는 유전성 대장암 질환이 있어 대장암 발생단계에 따른 각종 유전자의 변화를 분자생물학적으로 연구하기가 용이하기 때문이다. 근래 대장암의 발생에 대한 분자생물학적 연구가 활발히 이루어져 ras, myc, neu, cyclin 등의 암유전자와 p53, adenomatous polyposis coli(APC) gene, deleted in colorectal cancer(DCC) gene 등의 항암유전자가 관여한다고 알려졌으며[24], 이들 유전자들이 복합적으로 관여하여 대장암을 유발하는 다단계 암화과정이 제시되고 있다[13]. 현재 우리나라에서 한국인의 대장암과 각종 암유전자, 항암유전자와의 상호관계에 대한 연구는 미비한 실정이다.

이 연구에서는 한국인 대장암의 분자생물학적 특성을 이해하고자 대장암환자에서 수술시 적출된 암조직을 대상으로 ras, myc, fos, p53 등의 주요 암유전자 및 항암유전자의 증폭, 결실, 재배열 등의 구조적 이상과 과발현 등의 전사이상 등을 조사하였다.

재료 및 방법

1) 환자 및 조직

계명대학교 동산의료원에서 조직학적으로 대장암으로 확진된 환자의 외과적 수술시 적출된 대장암조직과 정상대장조직을 수술 즉시 액체질소에 보관하여 변성을 막으면서 실험을 시행하였다.

2) DNA분리

300 mg 정도의 조직에 조직 100 mg당 1 ml의 extraction buffer(10 mM Tris-0.1 M EDTA, pH 8.0)액을 넣어 ultraturrax homogenizer(IKA Co. Germany)로 15,000-20,000 rpm에서 3-5분 정도 조직을 파쇄시키고 RNase와 sodium dodecyl sulfate (SDS)를 최종농도 20 μg/ml, 0.5%(W/V)로 섞은 후 37℃에서 1시간 동안 진탕하였다. 여기에 최종농도 100 μg/ml로 proteinase K를 넣고 섞은 후 50℃에서 3시간 진탕하였다. 이것을 Tris saturated phenol, phenol/chloroform/isoamyl alcohol mixture, chloroform/isoamyl mixture로 각 1회씩 처리하여 제단백과정을 실시 후 상층액을 뽑아 0.2 volume의 10 M ammonium acetate와 2 volume의 ethanol을 넣어 DNA를 침전시킨 후 유리봉으로 DNA를 건져내어 70% ethanol로 세척후 10 mM Tris-1 mM EDTA용액에 DNA를 녹여 ultra violet (UV) spectrophotometer로 농도 및 순도를 측정 후 4℃ 에 보관하였다[5].

3) DNA 제한효소처리 및 전기영동

분리된 DNA 10 μg을 제한효소 30unit로 37℃에서 12시간 처리 후 0.8% agarose와 Tris-borate-EDTA buffer를 사용하여 수평형 전기영동장치로 10volt에서 24시간 전기영동하였다. 영동이 끝난 후 ethidium bromide(0.5 μg/ml)로 염색하고 UV transilluminator로 사진촬영 하였다. 제한효소는 c-Ha-ras를 위해서는 BamHI, c-myc, c-fos를 위해서는 EcoRI, p53을 위해서는 HindIII를 각각 사용하였다.

4) Southern blotting

전기영동된 gel을 0.2 N HCl solution에서 10분 진탕한 후 증류수에 잠시 씻고 0.5 N NaOH-1.5 M NaCl solution에 1시간 진탕 후 증류수에 잠시

계명대학교 | IP: 203.247.13.27 | Accessed 2016/01/11 11:10(KST)

씻고 그 다음에 1 M Tris-1.5 M NaCl, pH 7.4 solution에 1시간 진탕 후 증류수로 잠시 씻고 20X SSC(sodium chloride-sodium citrate)액으로 nitrocellulose membrane(0.45 μm pore size)으로 15시간 transfer를 실시하였다. Blotting된 filter는 80℃ 진공 oven에서 90분간 baking하여 고정시킨 후 비닐봉지에 넣고 sealing 후 데시케이터에 보관하다가 hybridization을 시행하였다[40].

5) RNA 분리

300mg 정도의 조직에 guanidium thiocyanate buffer (4M guanidium thiocyanate, 25 mM sodium citrate, 0.5% sarkosyl, 0.1 M 2-mercaptoethanol, 0.33% antifoam A emulsion)를 3 ml 넣고 homogenizer로 15,000 rpm에서 3분 정도 조직을 파쇄시키고 phenol/chloroform/isoamyl alcohol mixture을 처리한 후 10,000 rpm, 4℃로 20분 원심하여 상층액을 새 tube로 옮긴 후 동량의 2-propanol을 넣고 -70℃에 2시간 방치하였다. 이것을 10,000 rpm에서 4℃로 30분 원심하여 RNA침사를 얻은 후 75% cold ethanol로 세척하고 Speedvac concentrator(Savant Co, U.S.A.)에서 5분간 건조시킨 다음 여기에 diethyl pyrocarbonate(DEPC)처리된 증류수 300 μl를 넣어 녹인후 UV spectrophotometer로 농도 및 순도를 측정하고 -70℃에 보관하였다[9].

6) RNA Slot blotting

RNA를 formaldehyde로 denaturation시킨 후 4 μg, 2 μg, 1 μg의 3단계로 희석한 후 Minifold II slot blot장치(S & S, Germany)를 사용하여 nitrocellulose filter에 blotting 시킨 후 80℃ vacuum oven에서 90분 baking하여 고정시키고 비닐봉지에 넣고 sealing 후 데시케이터에 보관하다가 hybridization을 실시하였다.

7) Hybridization 및 Autoradiography

Blotting되어 데시케이터에 보관하던 nitrocellulose filter에 0.75 M sodium chloride, 0.075 M sodium citrate, 0.1% SDS, 0.02% polyvinyl pyrolidone(PVP), 0.02% Ficoll 400, 0.02% bovine serum albumin(BSA), 5% salmon sperm DNA 및 50% formamide를 함유한 용액을 넣고 42℃에서 16시간 prehybridization을 실시하고 그 다음에 동위원소로 표지된 각종 probe를 각각 넣고 42℃에서 40시간 hybridization을 실시하였다. Hybridization 후 filter를 2X SSC, 0.1% SDS 용액으로 실온에서 10분씩 2회, 1X SSC, 0.1% SDS 용액으로 65℃에서 15분, 0.1X SSC, 0.1% SDS 용액으로 65℃에서 10분 세척한 후 autoradiography를 시행하였다. 현상된 x-ray film은 GS300 scanning densitometer (Hoefer Scientific Instruments)를 사용하여 density를 측정하였다.

8) Probes

c-myc probe는 human genomic DNA의 myc gene 3rd exon에 해당하는 부위의 1.4 Kb의 ClaI/EcoRI 절단절편(Oncor, Inc.)을 사용하였으며, c-Ha-ras probe는 Harvey Rat Sarcoma Virus의 0.73 Kb SstII/PstI 절단절편(Oncor, Inc.), c-fos probe는 FBJ Osteosarcoma Virus Proviral DNA의 1.0 Kb PstI/PvuII 절단절편(Oncor, Inc.), p53 probe는 php 53B plasmid(American Type Culture Collection)로부터 BamHI으로 절단해낸 2 Kb의 human p53 cDNA를 사용하였다. 각각의 probe는 Nick translation법으로 alpha ^{32}P-dCTP로 labelling한 후 Sephadex G-50 column chromatography로 순수분리한 후 사용하였다.

성 적

1) Southern blot hybridization

30명의 대장암 환자로부터 수술시 분리한 대장암 조직과 정상 대장점막조직으로 부터 DNA를 추출하여 c-myc, c-Ha-ras, c-fos, p53 유전자의 재배열이나 증폭 등의 구조적이상 유무를 알아보기 위하여 각 유전자에 대한 southern blot hybridization을 시행하였다(Fig. 1, Fig. 2). c-myc 유전자에 대한 southern blot 결과 유전자 재배열은 관찰되지 않았으나, 30례 중 12례(40%)에서 정상대조군에 비하여 1.5-3.2배의 유전자의 증폭을 보였다. c-Ha-ras 유전자는 6.6-8.0 Kb 사이에서 나타났으며, 유전자증폭 및 재배열은 관찰되지 않았다. c-fos와 p53 유전자는 9 Kb, 6.3 및 2.5 Kb에서 각각 나타났으며 대조군에 비해 유전자의 증폭이나 재배열은 관찰되지 않았다.

2) RNA slot blot hybridization

30명 환자의 대장암 조직과 정상 대장점막조직으로 부터 RNA를 추출하고 이를 전기영동한

계명대학교 | IP: 203.247.13.27 | Accessed 2016/01/11 11:10(KST)

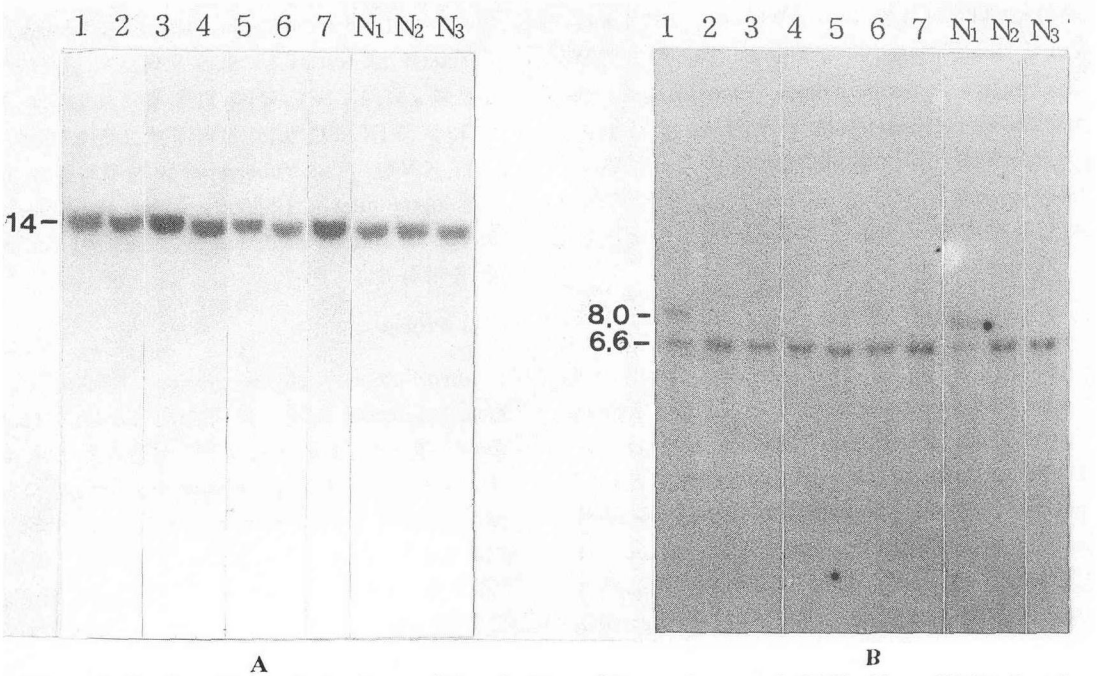

Figure 1. Southern blot analysis of c-myc(A) and c-Ha-ras(B) gene in genomic DNA. 20μg of DNA from human colorectal cancer tissues(Lane 1-7) and normal mucosa tissues(Lane N_1-N_3) was isolated, digested with EcoRI(A) and BamHI(B), and electrophoresed on 0.8% agarose gels. Blotting and hybridization was performed as described in Materials and Methods. The sizes of the DNA fragments in the bands are indicated in Kb.

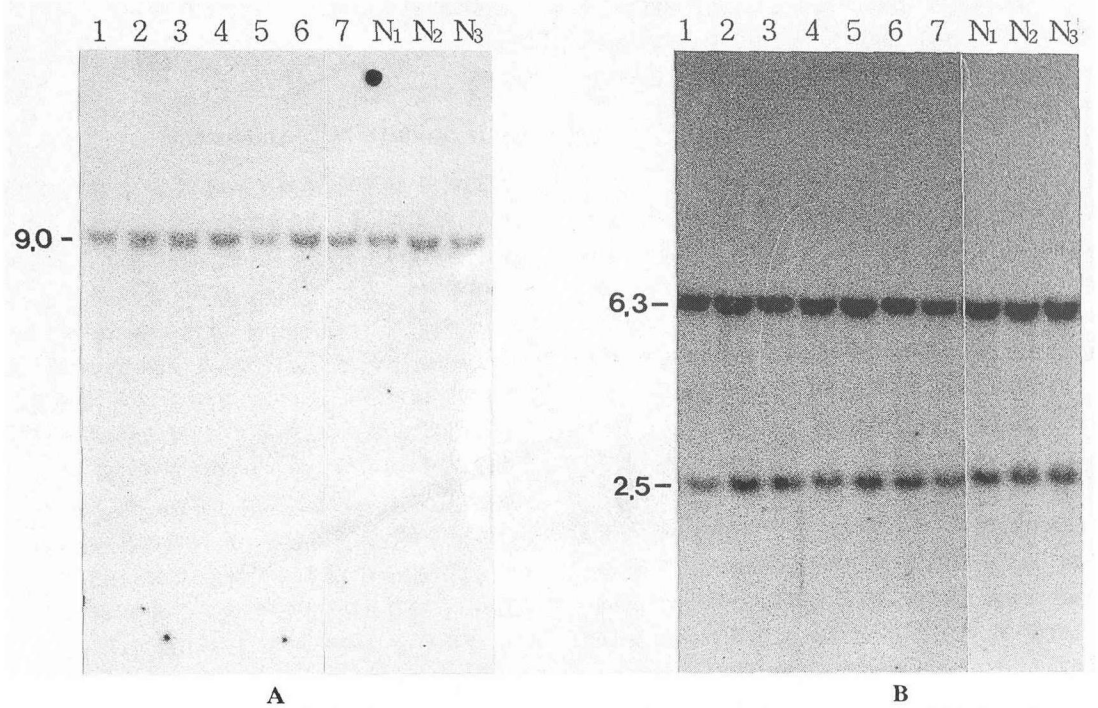

Figure 2. Southern blot analysis of c-fos(A) and p53(B) gene in genomic DNA. 20μg of DNA from human colorectal cancer tissues(Lane 1-7) and normal mucosa tissues(Lane N_1-N_3) was isolated, digested with EcoRI(A) and HindIII(B), and electrophoresed on 0.8% agarose gels. Blotting and hybridization was performed as described in Materials and Methods. The sizes of the DNA fragments in the bands are indicated in Kb.

계명대학교 | IP: 203.247.13.27 | Accessed 2016/01/11 11:10(KST)

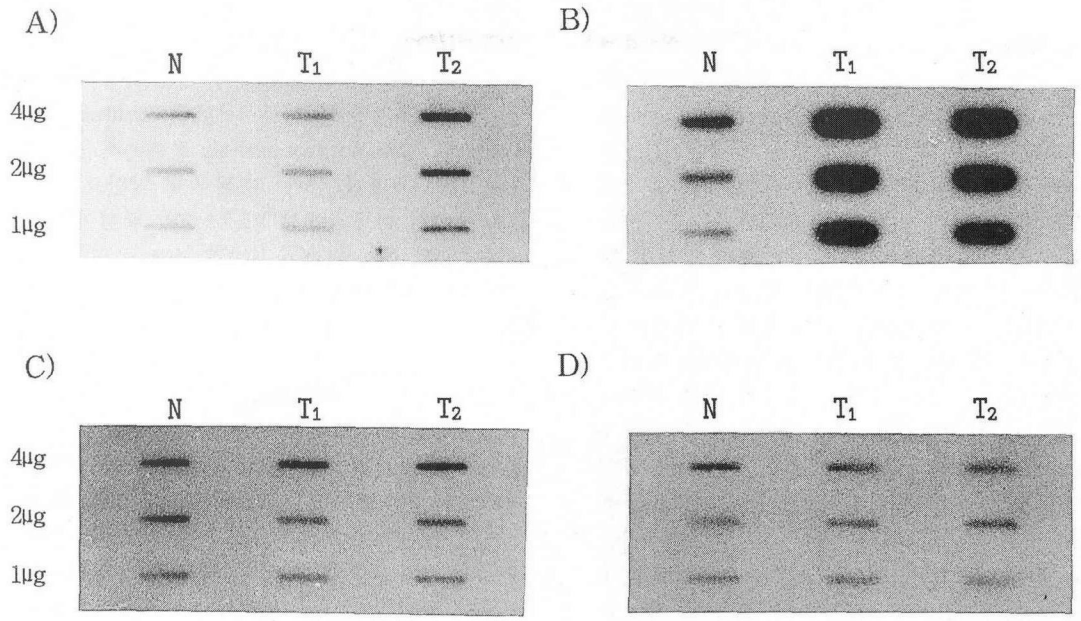

Figure 3. RNA slot blot analysis of c-Ha-ras(A), c-myc(B), p53(C), anb β-actin(D) gene expression in human colorectal cancer tissues. Extraction of RNA from tissues, slotting onto nitrocellulose filters and hybridization was performed as described in Materials and Methods. N, RNA from normal mucosa: $T_{1\text{-}2}$, RNA from colorectal cancer tissues.

후 ethidium bromide로 염색하여 18S rRNA와 28S rRNA의 전기영동상을 보아 파괴되지 않고 온전하다고 생각되는 RNA 17례만을 선별하여 실험하였다. Hybridization은 c-Ha-ras, c-myc, p53, beta-actin에 대한 probe로 시행하였으며 이 중 beta-actin은 각 암유전자와 항암유전자의 발현정도에 대한 대조군으로 사용하였다(Fig. 3). c-Ha-ras 유전자는 대장암 17례 중 2례에서 정상대조군에 비하여 1.5-2.1배의 발현 증가를 나타내었으며 c-myc 유전자는 47%(8례/17례)에서 1.5-5.7배의 발현 증가를 나타내었다. p53 유전자의 발현 정도는 대조군에 비하여 차이가 없었다.

고 찰

암질환은 유전자의 변화를 동반하는 세포성질환으로서 비조절적 세포증식에 기인하는 질환이다. 이러한 비조절적 세포증식은 세포의 분열, 증식과 분화 등을 조절하는 중요한 유전자의 변화에 의한 것으로 밝혀지고 있다. 대부분의 암의 발생은 한가지 유전자의 변화에 의한 것이 아니라 여러가지 암유전자나 항암유전자의 변화가 복합적으로 관여하여 발생한다. 대장암은 암화과정이 조직학적으로 hyperproliferation, adenoma, carcinoma, metastatic carcinoma등의 단계를 거치며 또한 각 단계마다의 조직을 쉽게 얻을 수 있어 암화과정의 분자생물학적 연구에 중요한 대상이되고 있다. 대장암의 발생은 여러가지 유전자가 관여하는 다단계 암화과정으로 발생한다고 생각되고 있다[13]. 이 실험에서는 대장암을 대상으로 여러가지 암의 발생에 중요하게 작용한다고 알려진 c-myc, c-Ha-ras, c-fos, p53 유전자들의 chromosomal DNA상의 구조적 이상 유무를 southern blot hybridization으로 조사하고 이들 유전자들의 전사이상을 조사하기 위하여 RNA slot blot hybridization을 시행하였다.

C-myc 유전자는 avian myelocytomatosis virus의 형질전환 염기서열(transforming sequence)의 homologue로서 발견된 유전자로 chromosome 8번(8q24)에 존재하며 helix-loop-helix구조와 leucine-zipper구조를 가지는 전사조절인자(nuclear transcription factor)인 $p62^{c\text{-}myc}$을 지령하는 유전자이다[4, 26, 37]. $p62^{c\text{-}myc}$은 핵내에 존재하는 단백질로서 그 기능이 완전히 밝혀져 있지는 않지만 세포증식, 분화, 세포주기조절, apoptosis 등에 관여한다고 생각되고 있다[30]. c-myc 유전자의 비조절적 전사

계명대학교 | IP: 203.247.13.27 | Accessed 2016/01/11 11:10(KST)

증가는 대장암을 포함한 여러가지 암에서 보고되고 있다. 이 실험에서는 c-myc 유전자의 재배열은 없었으나 1.5-3.5배 증폭이 40%(12/30)의 대장암조직에서 보였으며 RNA slot blot analysis결과 47%(8/17)의 대장암조직에서 전사증가(1.5-5.7배)가 나타났다. 전사증가가 나타난 8례 중 7례는 유전자 증폭이 있었던 예들로서 이들의 전사증가는 유전자 증폭에 의한 유전자의 양적인 증가에 기인한 것으로 생각되며, 유전자 증폭이 없었던 1례는 이 실험으로는 밝히지 못했지만 c-myc 유전자의 전사를 조절하는 promotor 부위에 이상이 있거나 또는 암세포 자체가 다른 여러가지 유전자의 이상으로 인해 증식속도가 빨라져 있으므로 세포증식 신호 전달에 대한 정상적인 반응으로서 c-myc유전자의 전사증가가 이루어졌을 수도 있다고 생각된다. 또한 유전자의 hypomethylation으로 인해 활성화가 이루어졌을 수도 있을 것이다[32,36]. c-myc 유전자의 증폭은 leukemia, lung cancer, breast cancer등의 여러 암들에서 발견되고 있으며 외국의 보고들은 다양하지만 20-30%의 대장암에서 유전자증폭을 보고하고 있다[1,8,17]. 그리고 c-myc 유전자의 전사증가는 약 60-70%의 대장암에서 보고되고 있다[18,38,39]. 이러한 결과는 이 실험의 결과와 유사한 것으로서 이로 미루어 볼때 c-myc 유전자의 증폭 또는 다른 여러가지 원인에 의한 c-myc 유전자의 과발현은 대장암의 암화과정에서 일반적인 중요한 인자로 생각된다.

Ras 유전자는 분자량 21 kilodalton의 protein(p21)을 지령하는 유전자로서 c-Ha-ras(chromosome 11), c-K-ras(chromosome 12), N-ras(chromosome 1) 등이 알려져 있으며, p21은 guanosine triphosphate(GTP)-binding protein으로서 GTP나 guanosine diphosphate(GDP)와 높은 결합력을 가지며, 자체로서 GTPase기능을 가지고 있는 단백질로 알려져 있다[10]. p21의 기능은 완전히 알려져 있지는 않지만 epidermal growth factor receptor, platelet-derived growth factor receptor등을 통해 전달되는 세포성장의 세포내신호전달(signal transduction) 매개체로 알려져 있으며 세포내로의 신호 전달은 Raf를 통한 mitogen activated protein(MAP) kinase cascade의 활성화나, RasGAP, neurofibromin 등의 Ras GTPase activating protein을 통해 이루어지는 것으로 알려지고 있다[3,15,16,23,35]. ras 유전자의 비정상적 활성화는 여러가지 암의 중요한 발생원인으로 알려져 있으며 과발현이나 점돌연변이에 의해 활성화 된다고 생각되고 있다[31,33]. 이 실험에서 c-Ha-ras 유전자의 구조적 이상이나 발현이상을 조사하기 위해 시행한 southern blot analysis와 RNA slot blot analysis 결과에서 유전자 증폭이나, 재배열 등은 관찰되지 않았으나 약 12%(2/17)의 대장암에서 1.5-2.1배의 발현 증가를 나타내었다. Spandidos와 Kerr[41], Monnat 외[29]도 대장암에서 c-Ha-ras유전자의 과발현을 보고한 바 있어 과발현에 의한 c-Ha-ras 유전자의 활성화가 대장암의 발생에 일부 관여하리라고 생각된다.

c-fos 유전자는 Finkel-Biskis-Jinkins murine sarcoma virus(FBJ-MSV)의 v-fos 유전자에 상응하는 유전자로 발견되었으며, 핵내에 존재하는 핵단백질로서 Fos 단백질은 Jun protein과 dimer를 형성하여 transcription factor로 작용함으로서 세포증식과 세포분화의 조절에 중요하게 작용하는 것으로 알려져 있다[34]. c-fos 유전자는 osteosarcoma, hepatocarcinoma, breast carcinoma 등의 발생과 관련된다는 보고들이 있다[2,42,43]. 이 실험에서 southern blot analysis로 c-fos유전자의 구조적 변화를 조사한 결과 유전자 증폭이나 재배열 등이 관찰되지 않아 c-fos 유전자의 구조적 변화와 대장암은 관련이 없는 것으로 생각되나 immunohistochemistry로 대장암에서 $p55^{c\text{-}fos}$의 발현증가를 제시한 보고가[22] 있어 전사과정이나, 단백합성과정에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

p53 유전자는 주로 세포의 분열을 억제하는 기능을 가지며 유전자의 결실이나 점돌연변이 등으로 비활성화됨으로서 암화과정에 관련한다고 알려진 항암유전자들 중의 하나로서 모든 인체에서 발생하는 암중 약 60%의 발생과 관련이 있다고 알려져 있다[21]. Southern blot analysis와 RNA slot blot analysis로 조사한 결과 유전자의 결실은 없었으며, 유전자의 발현정도에서도 정상 대장조직과 차이가 관찰되지 않았다. 그러나 p53유전자의 점돌연변이가 유방암(30-40%), 폐암(50%), 대장암(70%)등에서 발견된다고 보고되어 있어[21] p53에 의한 대장암의 발생기전은 주로 점돌연변이에 의한 비활성화가 작용하리라고 생각된다. p53 단백질은 transcription factor로 알려져 있으며[7], 특히 근래에 p53 단백질이 cyclin dependent kinases(CDKs)를 억제하는 단백질인 p21 protein을 지령하는 유전자인 Pic 1 gene의 transactivator로 작용한다고 알려져[11,25] 앞으로 p53유전

계명대학교 | IP: 203.247.13.27 | Accessed 2016/01/11 11:10(KST)

자의 점돌연변이와 기능에 대한 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

실험 결과들을 종합해 볼 때 한국인의 대장암에서도 서구인의 대장암 발생과 유사하게 c-myc 유전자의 증폭 및 과발현, c-Ha-ras 유전자의 발현 증가 등의 유전자변화가 동반되어 있음을 알 수 있었다. 앞으로 점돌연변이가 중요하다고 알려진 c-K-ras 및 c-Ha-ras, 그리고 p53 유전자들의 점돌연변이에 대한 연구와 이들 유전자변화를 진단, 예후판정에 사용하기 위한 많은 연구가 있어야 할것으로 생각된다.

결 론

대장암의 분자생물학적 발생과정에서 myc, fos, ras 암유전자 및 p53 항암유전자의 변화를 연구하기 위하여 30명의 대장암 환자로 부터 분리한 대장암조직과 정상대장조직을 대상으로 southern blot hybridization, RNA slot blot hybridization 방법 등으로 유전자의 증폭, 결실 등의 구조적 이상 및 전사과정의 이상에 대하여 조사하였다.

Southern blot analysis 결과 c-myc 유전자는 유전자 재배열은 없었으나, 40%(12/30)의 대장암조직에서 1.5-3.5배의 유전자 증폭이 있었으며, c-fos, c-Ha-ras 및 p53유전자는 유전자 재배열이나 유전자증폭 등이 보이지 않았다.

전사과정의 이상을 알아보기 위하여 조직에서 RNA를 분리하고 이들 중 파괴되지 않고 온전한 RNA 17례 만을 대상으로 시행한 RNA slot blot analysis 결과에서 c-myc 유전자는 47%(8/17)의 대장암조직에서 전사증가를 보였다. 전사증가를 나타낸 8례 중 7례는 유전자 증폭이 있는 조직이었으며 1례는 유전자 증폭이 나타나지 않은 조직이었다. c-Ha-ras 유전자는 12%(2/17)에서 1.5-2.1배의 전사증가를 나타내었으며, p53 유전자는 정상대장조직과 전사정도의 차이를 보이지 않았다.

이상의 결과로 보아 한국인 대장암의 발생에도 서구인과 유사하게 대장암 c-myc 유전자의 증폭과 과발현, c-Ha-ras 유전자의 과발현등의 기전이 관여한다고 생각된다.

참 고 문 헌

1) Alexander RJ, Buxbaum JN, Raicht R: Oncogene alterations in primary human colon tumors. *Gastroenterol* **91**(6): 1503-1510, 1986.
2) Arbuthnot P, Kew M, Fitschen W: c-fos and c-myc expression in human hepatocellular carcinomas. *Anticancer Res* **11**(2): 921-924, 1991.
3) Avruch J, Zhang X, Kyriakis JM: Raf meet Ras:completing the framework of a signal transduction pathway. *Trends Biochem Sci* **19**(7): 279-283, 1994.
4) Blackwood EM, Eisenman RN: Max: A helix-loop-helix zipper proteins that forms a sequence specific DNA binding complex with Myc. *Science* **251**(4998): 1211-1217, 1991.
5) Blin N, Stafford DW: A general methods for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes. *Nucleic Acids Res* **3**(9): 2303-2306, 1976.
6) Boland CR: The biology of colorectal cancer. *Cancer* **71**(12): 4180-4186, 1993.
7) Chang F, Syrjanen A, Tervahauta A, Syrjanen K: Tumourigenesis associated with the p53 tumor suppressor gene. *Br J Cancer* **68**(4): 653-661, 1993.
8) Cheng JY, Meng CL, Chao CF, Gau SD, Lin JC: Human papillomavirus type-related DNA and c-myc oncogene alterations in colon cancer cell lines. *Dis Colon Rectum* **34**(6): 469-474, 1991.
9) Chomczynski P, Sacchi N: Single-step method of RNA isolation by acid guanidine thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* **162**(1): 158-159, 1987.
10) Downward J: The ras superfamily of small GTP-binding proteins. *Trends Biochem Sci* **15**(12): 469-472, 1990.
11) El-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE, Levy DB, Parsons R, Trent JM, Lin D, Mercer WE, Kinzler KW, Volgelstein B: WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* **75**(4): 817-825, 1993.
12) Evans HJ, Prosser J: Tumor-suppressor genes: Cardinal factors in inherited predisposition to human cancers. *Environ Health Perspect* **98**(1): 25-37, 1992.
13) Fearon ER, Vogelstein B: A genetic model for

계명대학교 | IP: 203.247.13.27 | Accessed 2016/01/11 11:10(KST)

colorectal tumorigenesis. *Cell* **61**(5): 759-767, 1990.

14) Fearon ER, Jones PA: Progressing toward a molecular description of colorectal cancer development. *FASEB J* **6**(10): 2783-2790, 1992.
15) Feig LA: The many roads that lead to ras. *Science* **260(5109)**: 767-768, 1993.
16) Hall A: A biochemical function for Ras-at last. *Science* **264**(5164): 1413-1414, 1994.
17) Heerdt BG, Molinas S, Deitch D, Augenlicht LH: Aggressive subtypes of human colorectal tumors frequently exhibit amplification of the c-myc gene. *Oncogene* **6**(1): 125-129, 1991.
18) Imaseki H, Hayashi H, Taira M, Ito Y, Tabata Y, Onoda s, Isono K, Tatibana M: Expression of c-myc oncogenes in colorectal polyps as a biological for monitoring malignant potential. *Cancer* **64**(3): 704-709, 1989.
19) Koorey DJ, McCaughan GW: Tumor suppressor genes and colorectal neoplasia. *J Gastroenterol Hepatol* **8**(2): 174-184, 1993.
20) Levine AJ, Momand J, finlay CA: The p53 tumor suppressor gene. *Nature* **351**(6326): 453-456, 1991.
21) Levine AJ, Perry ME, Chang A, Silver A, Dittmer D, Wu M, Welsh D: The 1993 walter hubert lecture: The role of the p53 tumor suppressor gene in tumorigenesis. *Br J Cancer* **69**(3): 409-416, 1994.
22) Magrisso IJ, Richmond RE, Carter JH, Pross CB, Gilfillen RA, Carter HW: Immunohistochemical detection of Ras, Jun, Fos, and p53 oncoprotein expression in human colorectal adenomas and carcinomas. *Lab Invest* **69**(6): 674-681, 1993.
23) Marshall MS: The effector interactions of $p21^{ras}$. *Trends Biochem Sci* **18**(7): 250-255, 1993.
24) Marx J: New colon cancer gene discovered. *Science* **260**(5109): 751-752, 1993.
25) Marx J: How p53 suppresses cell growth. *Science* **262**(5140): 1644-1645, 1993.
26) Meichle A, Philipp A, Eilers M: The functions of myc proteins. *Biochim Biophys Acta* **1114**(2): 129-146, 1992.
27) Milsom JW: Pathogenesis of colorectal cancer. *Surg Clin North Am* **73**(1): 1-11, 1993.
28) Ministry of Health and Social Affairs: Five years' report for cancer registry programme in Republic of Korea. *J Korean Cancer Asso* **21**(1): 151-216, 1988.
29) Monnat M, Tardy S, Saraga P, Digglemann, Costa J: Prognostic implications of expression of the cellular genes myc, fos, Ha-ras and Ki-ras in colon carcinoma. *Int J Cancer* **40**(3): 293-299, 1987.
30) Osward F, Lovec H, Moroy T, Lipp M: E2F dependent regulation of human Myc: trans-activation by cyclin D1 and A overrides tumor suppressor functions. *Oncogene* **9**(7): 2029-2036, 1994.
31) Pulsiani S, Santos E, Long LK, Sorrentino V, Barbacid M: ras gene amplification and malignant transformation. *Mol Cell Biol* **5**(10): 2836-2841, 1985.
32) Razin A, Riggs AD: DNA methylation and gene function. *Science* **210**(4470): 604-610, 1980.
33) Reddy EP, Reynolds RK, Santos E, Barbacid M: A point mutation is a responsible for the acquistion of transforming properties by T-24 human bladder carcinoma oncogene. *Nature* **300**(5888): 149-152, 1982.
34) Sariban E, Luebbers R, Kufe D: Transcriptional and posttranscriptional control of c-fos gene expression in human monocytes. *Mol Cell Biol* **8**(1): 340-346, 1988.
35) Schlessinger J: How receptor tyrosine kinases activate Ras. *Trends Biochem Sci* **18**(8): 273-275, 1993.
36) Sharrard RM, royds JA, Rogers S, Shorthouse AJ: Patterns of methylation of c-myc gene in human colorectal cancer progression. *Br J Cancer* **65**(5): 667-672, 1992.
37) Sikora K, Chan S, Evan G, Gabra H, Markham N, Stewart J, Watson J: c-myc oncogene expression in colorectal cancer. *Cancer* **59**(7): 1289-1295, 1987.
38) Smith DR, Myint T, Goh HS: Over-expression of the c-myc proto-oncogene in colorectal carcinoma. *Br J Cancer* **68**(2): 407-413, 1993.

계명대학교 | IP: 203.247.13.27 | Accessed 2016/01/11 11:10(KST)

39) Soong TW, Hui KM: Regulation of the expression of major histocompatibility complex class I genes in human colorectal cancer. *Cancer Detect Prev* **15**(3): 231-239, 1991.
40) Southern EM: Detection of specific sequence among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* **98**(3): 503-518, 1975.
41) Spandidos DA, Kerr IB: Elevated expression of human ras oncogene family in premalignant and malignant tumours of colorectum. *Br J Cancer* **49**(6): 681-688, 1984.
42) Walker RA, Cowl J: The expression of c-fos proteins in human breast. *J Pathol* **163**(4): 323-327, 1991.
43) Wu JX, Carpenter PM, Gresens C, Keh R, Niman H, Morris JW, Mercola D: The protooncogene c-fos is overexpressed in the majority of human osteosarcoma. *Oncogene* **5**(7): 989-1000, 1990.

계명대학교 | IP: 203.247.13.27 | Accessed 2016/01/11 11:10(KST)