

B형 간염 동반 원발성 간암 환자에서의 CYP2D6와 NAT2 다형 현상에 관한 연구

한양대학교 의과대학 외과학교실, ¹유전학교실

신동일 · 이경근 · 이광수 · 조윤희¹

CYP2D6 and NAT2 Polymorphism in HBV Associated in Hepatocellular Carcinoma Patients in Korea

Dong Ill Shin, M.D., Kyeong Geun Lee, M.D., Kwang Soo Lee, M.D. and Youl Hee Cho, M.D.¹

Purpose: CYP2D6 and N-acetyltransferase (NAT2) are polymorphic enzymes which are expressed in the hepatocyte in a genotype-determined manner. They are known to be involved in the inactivation and activation of various mutagens and carcinogens, respectively. The activities of the two enzyme systems are associated with the genetic susceptibility of many human cancers.

Methods: This study was performed to determine the genotype frequencies of the two enzyme systems in primary hepatocellular carcinoma patients and healthy controls. One hundred healthy controls and 55 liver cancer patients were analyzed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP).

Results: In the healthy controls, the CYP2D6 wild type allele frequency was 0.985 and the CYP2D6*4 frequency was 0.015. No CYP2D6 poor-metabolizer was detected. No significant differences were found in the hepatocellular carcinoma patients group. Among the controls, the frequencies of F, S1, S2 and S3 alleles of the NAT2 system were 0.725, 0.01, 0.14 and 0.125, respectively. The genotype frequencies were found to be 0.91 for the rapid acetylator and 0.09 for the slow acetylator. No significant differences were found in the hepatocellular carcinoma group.

Conclusion: The distribution of CYP2D6 and NAT2 polymorphism is very unique in the Korean population, as characterized by the extremely low frequency of CYP2D6 poor-metabolizer and NAT2 slow acetylator. CYP2D6 and NAT2 polymorphisms did not seem to play an important role

in the hepatic carcinogenesis in the Korean population. (J Korean Surg Soc 2002;62:150-156)

Key Words: Hepatocellular carcinoma, Hepatitis B, CYP2D6 and NAT2 polymorphism

중심 단어: 원발성 간암, B형 간염, CYP2D6와 NAT2 다형현상

Departments of Surgery and ¹Genetics, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

서 론

사람에서 발생하는 암의 약 80%는 환경물질의 폭로와 관계가 있다고 한다.(1) 대부분 환경성 발암 물질은 그 자체로는 발암성을 갖지 못하지만, 인체 내에서 대사과정을 거친 후에 비로소 발암성을 갖는 물질로 변하게 된다. 고등 동물들은 이러한 과정에서 외부 물질로부터 자신을 보호하는 기전을 가지고 있어서 외부 물질을 대사하고 해독하는 것으로 알려져 있다. 이런 기전에 작용하는 체내 효소계는 크게 phase I 효소계와 phase II 효소계로 분류되는데, phase I 효소계는 외부 또는 내부의 발암물질을 활성화시키는 작용을 하는 cytochrome p450 family (CYPs)가 대표적이며, phase II 효소계는 활성화된 발암물질을 비활성화시키는 작용을 하는 것으로 glutathione S-transferase (GST)와 N-acetyltransferase (NAT)가 대표적인 예이다.

Phase I 효소계에 의하여 활성화된 발암물질은 DNA와 결합하여 DNA adduct를 형성하고, 이는 염기의 변화를 초래하게 되어 암을 발생하게 한다. 따라서, phase I 및 phase II 효소계의 활성화도 따라 결정되는 DNA adduct의 양에 의해 암발생의 위험도가 결정된다고 할 수 있다.(2-4)

연구 결과들에 따르면 이들 효소계에는 유전적 다형 현상(Genetic polymorphism)이 존재하고 있으며, 이에 의하여 효소계의 표현형(Phenotype)이 결정된다고 한다. 따라서 이들 효소계의 유전적 다형 현상과 여러 암과의 관련성을 밝히고자 하는 많은 연구가 이루어졌으며, 최근의 분자생물

책임저자 : 이광수, 서울시 성동구 행당동 17번지

☎ 133-792, 한양대학병원 외과

Tel: 02-2290-8451, Fax: 02-2281-0224

접수일 : 2001년 12월 12일, 게재승인일 : 2002년 1월 23일

학적 기법의 발달로 phase I 대사와 phase II 대사에 관여하는 CYPs, GSTM1, NAT 효소 등의 유전인자가 cloning되고, 염기서열이 밝혀져서, 효소 활성도에 따른 아형(Subtype) 분류가 가능하게 되었다. 이들 효소계의 다형성 검사는 인종에 따라 상당한 차이를 보이는 것으로 알려져 있으며, 특히 지역 및 인종 간의 암 발생 빈도와 종류의 차이, 생활 습관에 따른 발생 빈도 및 암의 유형의 차이를 설명하는 방법으로도 유용하게 이용되고 있다.(5-8) CYP2D6는 phase I 대사계의 대표적 효소인 cytochrome P450 family의 일원으로 debrisoquine 4-hydroxylase의 역할을 한다. CYP2D6는 흡연 중에 노출되는 4-(n-methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butone (NNK)의 활성화에 관여하며,(9) 이 효소계의 다형 현상은 폐암의 상대적 위험도와 관련이 있는 것으로 알려져 있다.(10-12)

NAT 효소는 phase II 대사계의 효소로서 arylamine 같은 발암성 화학 물질의 분해 대사에 관여하고 있다. NAT 효소는 NAT1과 NAT2의 두 종류가 있으나 NAT2 효소만이 다형성을 보이며, 다형성에 따라 효소활성도가 결정되며, 통상적으로 rapid acetylator와 slow acetylator로 구분된다.(13,14) 백인들을 대상으로 한 연구에서 NAT2 다형 현상은 방광암, 폐암, 대장암 등에서 상대적으로 위험도의 연관 관계를 나타내기도 하였으나, 인종과 지역에 따라서는 상반된 결과를 보인 경우도 있다.(15-17)

이들 CYP2D6 및 NAT2 효소계의 다형 현상을 조사하기 위한 방법으로 종래에는 특정 약물이나 화학 물질을 투여하고 그 대사 산물을 시간별, 투여 농도별로 혈중, 요 중에서 측정하여 분석하였으므로 시간과 경비가 많이 소요되었고, 많은 수의 사람을 대상으로 하기 어려웠을 뿐 아니라 후향적 조사는 불가능하였다. 그러나 최근 분자 생물학적 기법의 발달로 이들 효소계의 유전인자가 cloning되면서 효소계의 활성도를 결정하는 다형 현상의 정체가 분자 수준에서 밝혀짐에 따라 비교적 간단하게 각 효소계의 인자형(genotype)을 결정할 수 있게 되었으며, 환자군의 DNA 확보되어 있다면 후향적 조사도 가능하게 되었다.(18-20)

본 연구에서는 한국인 남성에서 2번째로 빈발하는 B형 간염 동반 원발성 간암 환자와 건강한 대조군을 대상으로 NAT2 효소계와 CYP2D6 효소계의 다형 현상을 비교하여 이들 효소계의 다형 현상이 한국인에서 발생하는 원발성 간암에서 위험적 요인(risk factor)으로 작용하는지 여부를

밝혀보고자 시도하였다.

방 법

1) 연구 대상 집단

한양대학병원 일반외과에서 원발성 간암으로 진단 받고, 간 절제술을 받은 환자 중 B형 간염 바이러스 표면 항원 양성인 55명을 실험군으로 하였으며, 암으로 진단 받은바 없는 건강한 남녀 100명을 대조군으로 하였다.

2) 연구 방법

(1) 연구 대상의 DNA 추출: 실험군과 대조군으로부터 말초 혈액을 채취하여 EDTA로 항응고 처리한 후 Wizard Genomic DNA Purification System (Promega, USA)을 이용하여 genomic DNA를 추출하고, spectrophotometer로 정량하여 20°C에 보관하여 실험에 이용하였다.

(2) CYP2D6 효소계의 인자형 결정: CYP2D6 효소계의 인자형 결정은 PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism)법으로 시행하였다. 중합효소 연쇄반응은 1X PCR buffer (50 ml KCL, 10 ml Tris-Cl, pH 8.0, 0.01% gelatin, 0.1% triton X-100, 1.5 ml MgCl₂), 1 mM dNTPs, 2.5 unit *Taq* polymerase (Takara, Japan)의 혼합액에 각각의 primer 100 pmol과 1 µg의 DNA를 혼합하여 100 µl로 용량을 맞춘 후 DNA thermal cycler (Perkin-Elmer, USA)로 반응을 진행하였다. 반응 조건은 95°C에서 1분간 denaturation시키고, 50°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분간 extension 시키는 과정을 30회 반복하였다. 반응 산물은 2% 한천 겔에서 전기영동하여 반응의 성공여부를 확인하였고, 제한 효소로 처리하고 전기영동하여 인자형을 결정하였다.

6종 이상의 대립 인자들이 CYP2D6 효소 활성도를 낮추는 것으로 알려져 있으나 그중 80% 정도를 차지하는 CYP2D6*4 대립인자에 대한 인자형 결정만을 시행하였다. (21) CYP2D6*4 대립인자는 intron 3/exon 4 splice site인 1934 번째 염기인 G가 C로 치환되어 제한효소 BstN1 인식 부위가 소실된 경우이다. 따라서 BstN1 인식 부위가 있는 경우는 CYP2D6*4로 하였고, BstN1 인식 부위가 있는 경우는 CYP2D6*N4 (CYP2D6*4 이외의 대립인자)로 명명하였다. Fig. 1에 실험에 사용한 primer의 염기 서열과 각 대립인자

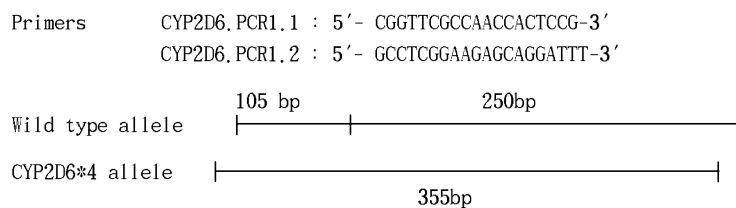


Fig. 1. Schematic representation of *BstNI* polymorphism of CYP2D6, showing each PCR primer sequences and expected RFLPs.

의 제한 효소 절편 길이를 도식화하여 제시하였다.

CTP2D6 효소계의 표현형은 CYP2D6*4/CYP2D6*4의 동형접합체인 경우 poor metabolizer로, CYP2D6*4/CYP2D6*4의 이형접합체인 경우 intermediate metabolizer로, CYP2D6*4/CYP2D6*4인 경우 extensive metabolizer로 판정하였다.

(3) NAT2 효소계의 인자형 결정: NAT2 효소계의 인자형 결정은 PCR-RFLP법으로 시행하였다. NAT2 효소계의 대립인자로는 rapid acetylation시키는 대립인자와 slow acetylation시키는 S1, S2, S3 대립인자가 알려져 있다. S1 대립인자는 NAT2 유전인자의 586번째 염기에 *KpnI* 제한 효소 인식부위가 있고, S2 대립인자는 695번째 염기에 *TaqI* 제한 효소 인식부위가 있고, S3 대립인자는 963번째 *BamHI* 제한 효소 인식부위가 있다. 반면에 F 대립인자는 이러한 제한 효소의 인식부위가 없다. 따라서 제한 효소 절편의 길이를 분석함으로써 각 대립인자를 인식할 수 있다.(22) 실험에 사용한 primer 염기 서열과 각 대립인자의 제한 효소 절편 길이를 도식화하여 Fig. 2에 제시하였다.

S1, S2, 및 S3 대립인자는 열성으로 작용하므로 F/F, F/S1, F/S2 및 F/S3인 개체는 rapid acetylator로 판정되고, S1/S1, S1/S2, S1/S3, S2/S3 및 S3/S3 개체는 slow acetylator로 판정하였다.

(4) 통계처리: 임상적 자료와 NAT2 및 CYP2D6의 인자형

간의 연관성 검정과 상대적 위험도 결정은 chi-square test로 시행하였으며, 모든 통계 처리는 SPSS program (SPSS Inc, USA)을 이용하였다.

결 과

1) 정상 대조군과 원발성 간암 환자군에서 CYP2D6 다형 현상

CYP2D6 효소계의 인자형에 따른 실험 결과 사진을 Fig. 3에 제시하였으며, 100명의 정상 대조군과 55명의 환자군에서 CYP2D6 효소계의 다형 현상 분포를 Table 1에 제시하였다.

정상 대조군에서의 CYP2D6*N4 대립인자 빈도는 0.985이었으며, CYP2D6*4 대립인자 빈도는 0.015이었다. 환자군에서의 CYP2D6*N4 대립인자 빈도는 0.991이었으며, CYP2D6*4 대립인자 빈도는 0.009로서 두 군 간의 대립인자 빈도에는 유의한 차이가 없었다. 대조군과 환자군 모두에서 CYP2D6*4/CYP2D6*4의 동형접합체는 관찰되지 않았으며, 대조군에서 3명, 환자군에서 1명이 intermediate metabolizer인 CYP2D6*N4/CYP2D6*4 이형접합체로 밝혀져서, 표현형의 빈도 역시 두 군 간의 통계적 차이는 없었다.

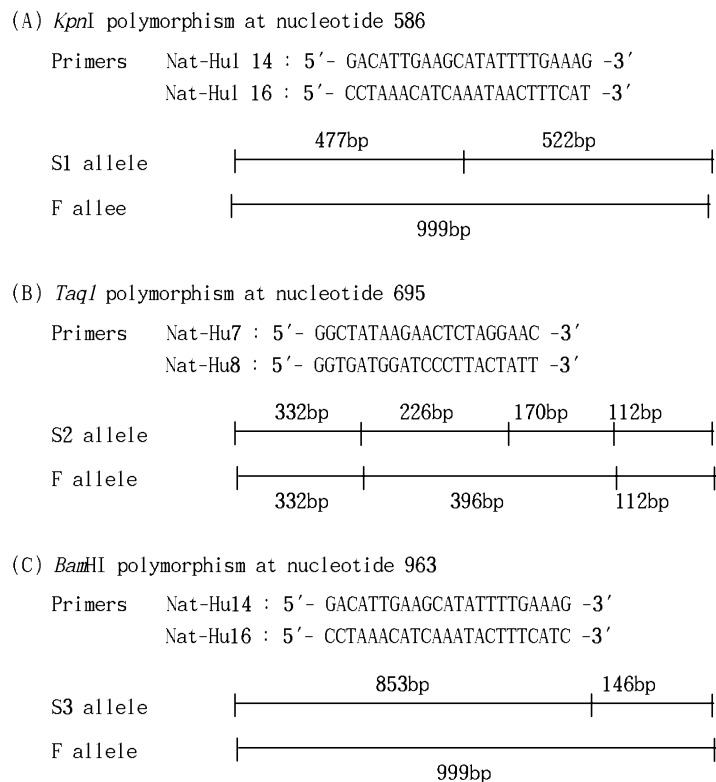


Fig. 2. Schematic representation of NAT2 genotyping procedure, showing each PCR primer sequences and expected RFLPs.

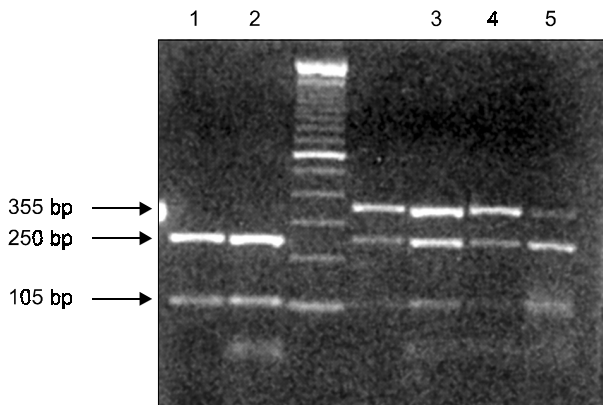


Fig. 3. Electrophoretic patterns of CYP2D6 polymorphism. CYP2D6*N4/CYP2D6*4 heterozygotes (lane 3~6), and CYP2D6*N4/CYP2D6*N4 homozygotes (lane 1,2) of *KpnI* polymorphism.

Table 1. Allele frequencies and phenotype frequencies of CYP2D6 polymorphism in normal control and hepatodellular carcinomapatients group

Allele/phenotype	Control group (n=100)	Hepatoma group (N=55)
CYP2D6*N4 allele	0.985	0.991
CYP2D6*4 allele	0.015	0.009
Extensive metabolizer	0.97	0.982
Intermediate metabolizer	0.03	0.018
Poor metabolizer	0	0

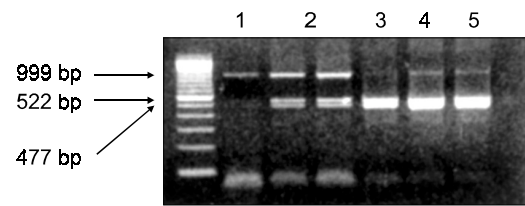
Table 2. Allele frequencies and phenotype frequencies of NAT2 polymorphism in normal control and hepatocellular carcinoma patient group

Allele/phenotype	Control group (n=100)	Hepatoma group (n=55)
F allele	0.725	0.682
S1 allele	0.01	0.018
S2 allele	0.14	0.164
S3 allele	0.125	0.136
Rapid acetylator	0.91	0.95
Slow acetylator	0.09	0.05

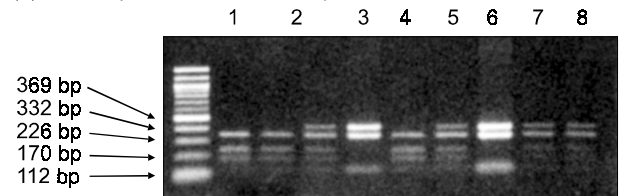
2. 정상 대조군과 원발성 간암환자군에서 NAT2 다형 현상

NAT2 효소계의 인자형에 따른 실험 결과 사진을 Fig. 4에 제시하였으며, 100명의 정상 대조군과 55명의 환자군에

(a) *KpnI* polymorphism of NAT2 system



(b) *TaqI* polymorphism of NAT2 system



(c) *BamHI* polymorphism of NAT2 system

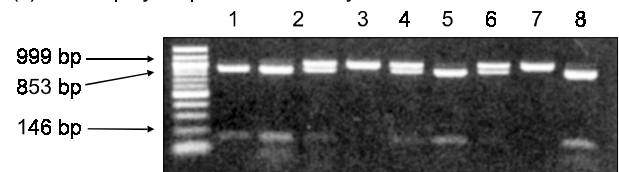


Fig. 4. Electrophoretic patterns of NAT2 polymorphisms. (a) S1/S1 homozygote (lane 1), F/S1 heterozygote (lane 2,3) and F/F homozygote (lane 4,5,6) of *KpnI* polymorphism. (b) S2/S3 homozygote (lane 1,2,5), F/S2 heterozygote (lanes 3,6,8,9) and F/F homozygote (lanes 4,7) of *TaqI* polymorphism. (c) S3/S3 homozygote (lanes 1,2,6,9), F/S3 heterozygote (lane 3,5,7) and F/F homozygote (lanes 4,8) of *BamHI* polymorphism.

서 NAT2 효소계의 다형 현상 분포를 Table 2에 제시하였다.

정상 대조군에서 F 대립인자 빈도는 0.725이었으며, S1, S2 및 S3 대립인자의 빈도는 0.01, 0.14 및 0.125이었다. 환자군에서의 F 대립인자 빈도는 0.682이었으며, S1, S2 및 S3 대립인자 빈도는 각각 0.018, 0.164 및 0.136으로 두 군 간의 대립인자 빈도에는 유의한 차이가 없었다. Acetylator 표현형에서는 대조군에서 rapid acetylator와 slow acetylator가 각각 0.91과 0.09이었으며, 환자군에서도 각각 0.95와 0.05로 양 군 간의 차이가 없었다.

고찰

사람에게 발생하는 대부분의 암은 인체내부 혹은 외부로부터 폭로되는 발암성 물질과 이를 대사하고 해독하는 개인의 유전인자의 상호 작용에 의하여 발생하게 된다.(23) 특히 외부의 발암 물질들, 즉 흡연, 약물, 화학 물질, 대기 오염 물질 등의 노출이 발암 과정에까지 이르는 데는 개인의 유전적 감수성(genetic susceptibility)의 차이가 매우 중요

한 역할을 하는 것으로 알려져 있어서, 이러한 발암 물질의 대사나 해독 과정에 관여하는 효소계의 다형 현상과 각종 암 발생과의 상관 관계를 밝히고자 하는 노력이 많이 진행되어 왔다. 특히 분자생물학적 방법의 발달로 간편하게 관련 효소계의 표현형을 알 수 있게 되면서, 개인의 유전적 감수성에 따른 상대적 위험도를 암 예방의 한 지표로 삼고자 하는 노력도 활발히 이루어지고 있다.(5,24)

대표적인 화학적 발암 물질로는 흡연에 의해 인체에 노출되는 polycyclic aromatic hydrocarbon과 aromatic amines가 있다. 이들은 phase I 대사계의 CYPs에 의해 활성화되고 phase II 대사계의 GST와 NAT에 의해 비활성화 혹은 해독된다. 따라서 이들 물질과 관련 있는 폐암, 방광암, 상부소화기암, 구강암, 후두암 등의 발생은 phase I 및 II 대사계의 효소 활성도와 관련이 있을 것으로 생각된다.(4,7)

CYP2D6 (debrisoquine 4-hydroxylase)는 22번 염색체의 장완(22q13.1)에 존재하는 cytochrome P450 효소계의 하나로써 독성 물질이나 발암 물질을 활성화시키는 phase I 효소계의 대표적 효소이다.(25) CYP2D6는 흡연 중에 노출되는 4-(n-methyl-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butane(NNK)의 활성화에 관여하며, CYP2D6 활성도가 높은 사람은 폐암 및 방광암의 위험도가 높다고 잘 알려져 있다. 또한 CYP2D6는 주로 간세포에서 많이 발현되므로 이 효소 활성이 높은 사람에서는 afltoxin B1이나 nitrosamine과 같은 독성 물질에 의한 간암 발생의 가능성이 제시되고 있다.(9)

CYP2D6 유전인자에는 최소한 7개 이상의 대립인자가 알려져 있다. CYP2D6*1A가 정상적인 효소 활성화를 갖는 wild type 대립인자이며, CYP2D6*3, CYP2D6*4, CYP2D6*5, CYP2D6*A는 효소 활성이 없는 대립인자이고, CYP2D6*9, CYP2D6*10A는 효소 활성이 저하되는 대립인자이다.(26) 백인 집단의 연구 결과를 보면 CYP2D6 효소 활성이 낮은 poor-metabolizer의 빈도는 3~9%로 알려져 있고,(27,28) 그 중 약 80%는 CYP2D6*4에 의한 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 CYP2D6*4만을 조사하였으나 대조군과 환자군 모두에서 poor-metabolizer는 관찰되지 않아서, CYP2D6*4 poor-metabolizer의 빈도는 백인 집단에 비하여 더 낮을 것으로 생각되지만, NAT2 다형 현상의 경우처럼 CYP2D6*4 이외의 다른 비활성 대립인자의 빈도가 높을 수도 있겠다. Agundez 등(29)은 75명의 원발성 간암 환자군에서 extensive-metabolizer가 71예(91%) 관찰되었고, 200명의 대조군에서 147예(74%)가 관찰되어서 유의한 차이가 있다고 보고하고 있으나, 본 연구에서는 환자군과 대조군 모두에서 poor-metabolizer가 관찰되지 않아서 양 군 간의 차이가 없었다. 이러한 차이 역시 한국인 집단에서의 CYP2D6 비활성화 대립인자의 빈도가 매우 낮기 때문에 일어나는 현상으로 생각될 수 있겠다.

NAT2는 아세틸기를 조효소인 acetyl coenzyme A로부터 aromatic amine의 질소 원자에 옮겨 줌으로써 phase II 대사

반응에 관여한다. 사람의 NAT 효소계 유전인자는 염색체 8q22에 위치하고 있으며 3개의 유전인자가 있는데 그 중 2개의 유전인자가 기능을 하며, 각각 NAT1과 NAT2로 명명되고 있다. NAT1은 최근에 3'-uncoding region에 다형 현상이 존재함이 밝혀졌으며, 이들의 기능적 측면은 아직 밝혀지지 않았다. NAT2는 최근에 rapid acetylator와 slow acetylator로 acetylator phenotype을 구분짓는 효소계로써 과거에는 약물 투여 후 그 대사 산물을 혈중 농도 측정에 의하여 acetylator phenotype을 구분하였으나, Deguchi에(20) 의하여 NAT2 유전인자가 cloning 된 후 간단한 분자 생물학적 방법으로 genotype도 결정할 수 있게 되었고, 이에 따라 acetylator phenotype도 결정할 수 있게 되었다. 6개 이상의 대립인자가 알려져 있으나, 빈도가 높은 것은 rapid acetylation시키는 F 대립인자와 slow acetylation시키는 S1, S2, S3 대립인자가 있다.(13,14) F 대립인자가 우성으로 작용하고 있어서 F/F, F/S1, F/S2, F/S3는 rapid acetylator phenotype으로 분류되며, 기타의 조합은 slow acetylator phenotype으로 분류된다. 이러한 NAT2 대립인자의 빈도와 표현형의 빈도는 인종이나 지역 간에 차이가 있는 것으로 보고되고 있다. 백인 집단에서의 S1 대립인자가 0.452 높은 빈도를 나타내고 있으나, 일본인 집단에서는 발견되지 않았으며,(20) 본 연구 결과에서도 0.01로 매우 낮은 빈도를 보이고 있다. F 대립인자의 빈도에서도 인종 간의 큰 차이를 보이고 있는데 본 연구 결과와 일본인 집단에서는 각각 0.725와 0.68로 유사한 빈도를 나타내고 있지만, 백인 집단에서는 0.258로 그 빈도가 낮게 보고되고 있다. 표현형의 빈도에서는 백인 집단은 0.258로 slow acetylator가 52%를 차지하고 있으며, 동양인(중국인과 일본인)을 대상으로 한 연구에서 14%, 흑인 집단은 35%의 빈도를 보이고 있다. 본 연구 결과에서는 9%가 slow acetylator로서 가장 낮은 빈도를 보이고 있어서 일반적으로 동양인에서의 slow acetylator의 낮은 경향에는 일치하고 있으나, 일본인의 경우에는 slow acetylator의 대부분이 S2 대립인자에 기인하는 데 반하여 한국인의 경우에는 S2 및 S3 대립인자가 0.14와 0.125로 특이한 분포양상을 보이고 있다.

Slow acetylator 표현형이 담배나 aromatic amine과 연관된 방광암의 발생에 있어 개인의 유전적 감수성과 관련되어 있음이 보고되어 있으며, aromatic amine에 노출될 위험성이 있는 작업에는 slow acetylator 표현형인 사람을 배제시킴으로써 방광암의 발생을 예방할 수 있을 것이라는 가능성이 제시되어 있다.(30)

원발성 간암에서 NAT2 표현형에 의한 환자의 유전적 감수성에 대한 연구는 slow acetylator 표현형의 빈도가 유의하게 높다는 결론을 내리고 있다.(29) Agundez 등(29)은 100명의 원발성 간암 환자군에서 slow acetylator 표현형의 빈도가 68%로 대조군에서의 53.9%에 비하여 유의하게 높으며, slow acetylator의 상대적 위험도(odds ratio)는 1.8이었다고

보고하고 있다. 이러한 현상은 특히 B형 및 C형 간염과 관련이 없는 간암 환자의 경우에 더욱 강한 연관 관계를 보이고 있다고 하였다. 본 연구 결과는 환자군과 대조군간의 유의한 차이를 입증할 수 없는데, 이는 한국인에서의 slow acetylator 표현형의 빈도가 매우 낮다는 것과 본 연구의 대상인 간암 환자들이 모두 B형 간염과 연관된 원발성 간암 환자였다는데 기인한다고 생각된다.

Agundez 등(29)은 100명의 원발성 간암 환자군과 258명의 대조군을 대상으로 NAT2 및 CYP2D6 다형 현상을 조사하여 환자군과 대조군에서의 slow acetylator의 빈도를 각각 68%와 53.9%로 보고하였고, 이러한 차이는 B형 및 C형 간염 바이러스 marker 음성인 환자군에서 더욱 큰 차이를 보인다고 하였다. 또한 slow acetylator이면서 CYP2D6 extensive-metabolizer인 사람은 원발성 간암의 상대적 위험률이 2.6배 (95% 신뢰구간 1.6~4.4)이고, 간염 바이러스 marker 음성인 환자군에서는 상대적 위험률이 5.6 (95% 신뢰구간 1.4~33.3)로 더 높다고 보고하였다. 그러나 본 연구 결과는 모두 양 군 간의 유의한 차이를 입증할 수 없었는데, 이는 환자군이 모두 B형 간염 바이러스 marker 양성이었으며, 한국인의 slow acetylator나 CYP2D6의 빈도가 매우 낮은 민족적 특성에 기인한다고 해석할 수 있다. 따라서 NAT2 및 CYP2D6 다형 현상은 한국인의 원발성 간암 발생의 위험 요인으로 작용하지 않는다고 생각되며, 향후 더 많은 환자군 특히 간염 바이러스 marker 음성인 환자군을 대상으로 재검토되어야 할 것으로 생각된다.

결론

PCR-RFLP 방법을 이용하여 한국인에 빈발하는 B형 간염 동반 원발성 간암 환자 55명과 건강한 대조군 100명을 대상으로 CYP2D6 효소계와 NAT2 효소계의 다형 현상을 비교하여 이들 효소계의 다형 현상이 한국인에서 발생하는 원발성 간암에서 위험적 요인으로 작용하는지 여부를 밝혀 보고자 시도하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 대조군에서의 CYP2D6*4 대립인자의 빈도는 0.015이었으며, 환자군에서는 0.009로서 양 군 간의 대립인자 빈도에는 유의한 차이가 없었다.
2. 대조군과 환자군 모두에서 CYP2D6 poor metabolizer는 관찰되지 않았으며, 대조군에서 3명, 환자군에서 1명이 intermediate metabolizer인 이형 접합체로 밝혀져서, CYP2D6 표현형의 빈도 역시 두 군 간의 통계적 차이는 없었다.
3. 대조군에서의 NAT2 F 대립인자 빈도는 0.725이었으며, S1, S2 및 S3 대립인자의 빈도는 각각 0.01, 0.14 및 0.125이었다. 환자군에서의 F 대립인자 빈도는 0.628이었으며, S1, S2 및 S3 대립인자 빈도는 각각 0.018, 0.16 및 0.136으로 두 군 간의 대립인자 빈도에는 유의한 차이가 없었다.
4. Acetylator 표현형에서는 대조군에서 rapid acetylator와

slow acetylator가 각각 0.91과 0.09이었으며, 환자군에서도 각각 0.95와 0.05로 양 군 간의 차이가 없었다.

이상의 결과에서 CYP2D6 및 NAT2 다형 현상은 한국인의 원발성 간암 발생의 위험요인으로 작용하지 않는다고 판단되었다. 이는 한국인에서의 CYP2D6 poor metabolizer와 NAT2 slow acetylator의 빈도가 타인종 및 민족에 비하여 매우 낮은 민족적 특징을 보였고, 환자군이 모두 B형 간염 바이러스에 의한 원발성 간암 환자였기 때문이라고 생각된다. 향후 더 많은 환자군, 특히 간염 바이러스 marker 음성인 환자군을 대상으로 재검토하여야 할 것으로 생각한다.

REFERENCES

- 1) Doll R, Peto R. The cause of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in United State today. *J Natl Cancer Inst* 1981;66:1191-308.
- 2) Kellerman G, Shaw CR, Luyten-Kellerman M. Aryl hydrocarbon hydroxylase inducibility and bronchogenic carcinoma. *New Engl J Med* 1973;298:934-7.
- 3) Kuori RE, McKinney G, Slomiany DJ, Snodgrass DR, Wray NP, Mclemore. Positive correlation between high arly hydrocarbon hydroxylase activity and primary lung cancer as analysed in cryopreserved lymphocytes. *Cancer Res* 1982; 42:5030-7.
- 4) Nebert DW. Roles of genetics and drug metabolism in human cancer risk. *Mutat Res* 1991;247:267-81.
- 5) Perera FP. Molecular cancer epidemiology: A new tool in cancer prevention. *J Natl Cancer Inst* 1987;78:887-98.
- 6) Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Karjalainen A, Anittila S, Varinio H. Point mutational MspI and Ile-Val Polymorphism closely linked in the CYP1A1 gene: lack of association with susceptibility to lung cancer in Finnish study population. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1992; 1:485-9.
- 7) Raunio H, Husgafvel-Pursiainen K, Snttila S, Anittila S, Hietanen E, Hirvonen A, et al. Diagnosis of polymorphisms in carcinogen-activating and inactivating enzymes and cancer susceptibility-a review. *Gene* 1995;159:113-21.
- 8) Perera FP. Environment and cancer: Who are susceptible? *Science* 1997;278:1068-73.
- 9) Crespi CL, Penman BW, Gelboin HV, Gonzalez FJ. A tobacco smoke-driven nitrosamine, 4-(n-methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone is activated by multiplr human cytochrome P450s including the polymorphic human cytochrome P4502d6. *Carcinogenesis* 1991;12:1197-201.
- 10) Ayesh RJ, Idle JR, Ritchie JC, Crothers MJ, Hetzel MR. Matabolic oxidation phenotypes as marker for susceptibility to lung cancer. *Nature* 1984;312:169-70.
- 11) Law WR, Hetzel MR, Idle JR. Debrisoquine metabolism and genetic predispsdision to lung cancer. *Br J Cancer* 1989;59: 686-7.
- 12) Benitez J, Ladero JM, Jara C, Larrillo M, Cobaleda J, Llerena

- A, et al. Polymorphic oxidation of debrisoquine in the lung cancer patients. *Eur J Cancer* 1991;27:158-61.
- 13) Blum M, Demierre A, Grant DM, Heim M, Meyer UA. Molecular mechanism of slow acetylation of drug and carcinogens in humans. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88: 5237-41.
 - 14) Vatsis KP, Martell KJ, Weber WW. Diverse point mutations in the human gene for polymorphic N-acetyltransferase. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:6333-7.
 - 15) Mommsen S, Barford NM, Aagaard J. N-acetyltransferase phenotypes in the urinary bladder carcinogenesis of a low-risk population. *Carcinogenesis* 1985;6:199-201.
 - 16) Wohleb JC, Hunter CF, Blass B, Kadlubar FF, Chu DZ, Lang NP. Aromatic amine acetyltransferase as a marker for colorectal cancer: environmental and demographic association. *Int J Cancer* 1990;46:22-30.
 - 17) Hubbard AL, Harrison DJ, Moyes C, Wyllie AH, Cunningham C, Mannion E, et al. N-acetyltransferase 2 genotype in colorectal cancer and selective gene retention in cancers with chromosome 8p deletion. *Gut* 1997;41:229-34.
 - 18) Gonzalez FJ, Skoda RC, Kimura S, Umeno M, Zanger UM, Nebert DW, et al. Characterization of the common genetic defect in humans deficient in debrisoquine metabolism. *Nature* 1988;331:442-6.
 - 19) Skoda RC, Gonzalez FJ, Demierre A, Meyer UA. Two mutant alleles of the human cytochrome p-450dbl gene (P450c2d1) associated with genetically deficient metabolism of debrisoquine and drugs. *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85:5240-3.
 - 20) Deguchi T, Mashimo M, Suzuki T. Correlation between acetylator phenotypes and genotypes of polymorphic arylamine N-acetyltransferase in human liver. *J Biol Chem* 1990;265: 12757-60.
 - 21) Shaw GL, Falk RT, Frame JN, Weiffenbach B, Nesbitt JC, Pass HI, et al. Genetic polymorphism of CYP2D6 and lung cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 1998;7:215-9.
 - 22) Abe M, Suzuki T, Deguchi T. An improved method for genotyping of N-acetyltransferase polymorphism by polymerase chain reaction. *Jpn J Hum Genet* 1993;38:163-8.
 - 23) Perera FP, Mooney LA. The role of molecular epidemiology in cancer prevention. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (Eds). *Cancer Prevention*. Philadelphia, J.B. Lippincott, 1993.
 - 24) Schulte PA, Perera FP. *Molecular epidemiology: Principles and practices*. New York. Academy Press, 1993.
 - 25) Kimura S, Umeno M, Skoda RC, Meyer UA, Gonzalez FJ. The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *Am J Hum Genet* 1989; 45:889-904.
 - 26) Dally AK, Brockmoller J, Broly F, Eichelbaum M, Evans WE, Gonzalez FJ, et al. Nomenclature for human CYP2D6 alleles. *Pharmacogenetics* 1996;6:193-201.
 - 27) Larry D, Amouyal G, Tinet P, et al. Polymorphism of dextromethorphan oxidation in a French population. *BR J Clin Pharmacol* 1987;24:676-7.
 - 28) Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P4502D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* 1997; 60:284-95.
 - 29) Agundez JA, Ledesma MC, Benitez J, Ladero JM, Rodriguez-Lescure A, Diaz-Rubio, et al. CYP2D6 genes and risk of liver cancer. *Lancet* 1995;345:830-1.
 - 30) Weber WW, Mattano SS, Levy GN. Acetylation pharmacogenetics and aromatic amine-induced cancer. In: King CM, (Ed). *Carcinogenic and mutagenic responses to aromatic amine and nitrosamine*. Elsevier. New York, NY, 1988.