

## Tumor Suppressor BRCA1의 기능과 최근 연구 동향

동의대학교 한의과대학 생화학교실 및 한의학연구소

정 정 원 · 최 영 현

### Recent Progress and New Findings in the Roles of Tumor Suppressor BRCA1

Jung Won Jung and Yung Hyun Choi

*Department of Biochemistry, College of Oriental Medicine, Dong-Eui University  
and Research Center for Oriental Medicine, Busan, Korea*

Breast cancer, which results from genetic and environmental factors leading to the accumulation of mutations in essential genes, is a common solid malignancy in women. The hereditary breast and ovarian cancer syndrome includes genetic alterations of various susceptibility genes. Among them, the breast cancer susceptibility gene (BRCA1) on chromosome 17q21 encodes an 1,863 amino acid protein that is important for normal embryonic development. Germline mutations of this gene are linked to a significantly increased lifetime risk for breast and/or ovarian cancer, and recent studies suggest that the same may be true for prostate cancer. Several activities that may contribute to the tumor suppressor function of BRCA1 have been identified via *in vitro* and *in vivo* studies. These include ① regulation of cell proliferation; ② participation in DNA repair/recombination; ③ induction of programmed cell death in damaged cells; and ④ regulation of transcription. A second breast cancer susceptibility gene (BRCA2) operates in some of the same molecular pathways as BRCA1, and mutations of this gene predispose to breast and ovarian cancer and probably to other tumor types, including prostate cancer. Less than 5% of breast cancers are hereditary, but over 90% of hereditary breast cancers are caused by a mutation of either BRCA1 or BRCA2. The mutation may be inherited from either the maternal or the paternal side of the family. A large number of diverse functions have been attributed to the BRCA1 and BRCA2 breast cancer susceptibility genes. Here we review recent progress and new findings in the field.

**Key Words:** BRCA1, BRCA2, Breast and ovarian cancer

## 서 론

Breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1)은 최근에 새로이 동정된 유전자로서 유방암과 난소암의 환자에서 높은 돌연변이를 보이고 있다. 다른 유전자의 염기서열과 연관성이 없어 염기서열에서는 그들의 기능에 관한 정보를 별로 얻을 수 없다. 현재까지의 연구결과로 BRCA1은 DNA 손상 수선, 배아 증식(embryonic proliferation), 전사조절, centrosome duplication, 세포 증식, apoptosis 등의 세포 내 여러 중요 기전에서 핵심적인 역할을 하는 보편적인 유전자로 인식되고 있다.<sup>1)</sup> 그렇다면 이렇게 여러 가지 보편적인 생체 경로에 관여하며 항상 발현되는 유전자에 돌연변이가 일어나면 왜 특이적으로 유방암과 자궁암을 일으키기 쉬운지, 왜 같은 유전자가 배아 증식과 암 억제에 모두 요구되는지에 관한 의문에 해답을 찾을 필요가 있다.

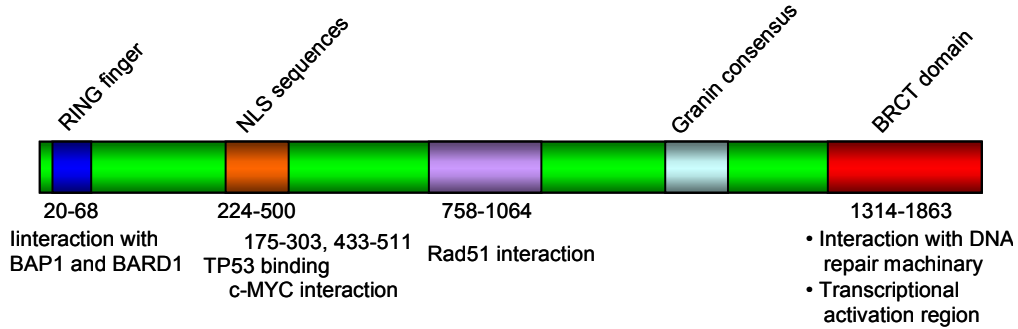
유방암은 백인 여성들에서 약 10% 이상 발병하는 가장 보편적인 암 중의 하나로서 매년 약 180,000명의 여자와 일부 남성들에게서 발병되고 있다.<sup>2)</sup> 유방암의 약 90% 정도는 산발성 질병으로서, 이미 잘 알려진 감수성 부위에서 생식세포 단계의 돌연변이가 없이 발병한다. 하지만 나머지 10% 경우 두 개의 종양억제 유전자인 BRCA1과 BRCA2의 돌연변이가 발병의 원인이 된다.<sup>3,4)</sup> BRCA1은 1990년 염색체상의 지도가 밝혀졌으며 1994년 동정되었다.<sup>3)</sup> BRCA1의 돌연변이는 가족성 유방암 환자의 45%, 유방 및 자궁암 환자의 80% 이상에서 발견되고 있다. 뿐만 아니라 BRCA1 보인자는 대장암에 걸릴 위험성도 4배나 증가되며, 남자 보인자의 경우 전립선암에 걸릴 위험성이 3배정도 증가된다.<sup>5)</sup> 여러 가지 결과로 BRCA1은 종양 억제 유전자로 간주되고 있지만 산발성 질병일 경우 BRCA1의 돌연변이는 거의 발견되지 않는다.<sup>6)</sup> 더구나 Brca1 돌연변이를 가지고 있는 mouse 배아는 임신기간 동안 증식의 결핍으로 인해 사망하게 되는, 이것은 종양 형성을 억제하는 BRCA1의 작용에 대한 질문을 던지게 한다.<sup>7~9)</sup> 이러한 관찰은 BRCA1이 직접적인 세포 증식을 억제하는 유전자(gatekeeper)라기 보다는 유전자

전체의 안정성을 유지하기 위한 1차적인 기능을 하는 유전자(caretaker)일 것이라는 가설을 이끌어 내고 있다.<sup>10,11)</sup>

최근에는 배양된 돌연변이 세포주 뿐만 아니라 mice에서 hypomorphic, 조직-특이적 돌연변이를 이용하여 BRCA1에 대한 기능 분석이 활발하다. 이 같은 실험에서 BRCA1은 몇 가지 세포 경로에서 필수적인 역할을 한다는 것이 밝혀졌다.<sup>12,13)</sup> 결론적으로, BRCA1의 결핍은 DNA 손상 수선의 결핍, 비정상적인 centrosome duplication, 세포 주기의 중단, 성장 지연, apoptosis의 증가, 종양 발생 등의 결과를 낳는다. 어떻게 하나의 유전자가 이렇듯 매우 넓은 효과를 나타낼까? 그 단서가 되는 것 중 하나가 바로 BRCA1과 결합하는 단백질들이다. 본 총설에서는 BRCA1 기능에 대한 이해를 위해 BRCA1의 구조와 발현 그리고 여러 가지 결합 단백질들에 의해 조절되는 다양한 경로들에 대해 살펴보고자 한다.

## BRCA1의 구조

BRCA1 유전자는 24개의 exon을 가지고 있으며 사람은 1,863개, 쥐는 1,812개의 아미노산으로 구성된 multidomain을 가진 단백질이다(Fig. 1).<sup>3,9)</sup> 사람의 BRCA1과 쥐의 Brca1 사이의 아미노산 서열의 유사성은 60% 정도이다. 다른 종양 억제 유전자의 경우 이것보다 훨씬 더 높은 유사성을 가진다. 종종 새로이 동정된 유전자에서 유사한 서열의 motif는 생물학적인 기능을 유추할 수 있는 단서가 되는데, BRCA1에서 처음으로 발견되고 가장 잘 연구된 motif는 N-말단 근처에 있는 RING finger domain이다. RING finger는 단백질-단백질 혹은 단백질-DNA사이의 결합을 필요한 zinc-결합 영역으로서 보존된 cysteine과 histidine으로 구성되어 있다.<sup>12,13)</sup> 몇몇 RING finger 단백질은 ubiquitin화를 촉진시킨다.<sup>14,15)</sup> 최근 연구결과 Brca1 RING finger와 인접 영역이 ubiquitin-conjugation enzyme 존재 하에 *in vitro* 상에서 ubiquitin화되었음이 보고된 바 있다.<sup>15,16)</sup> 다른 RING finger 단백질의 연구결과에 비추어 보면 만일 BRCA1 RING finger가 세포 내 성장인자들의 ubiquitin화에 관련되어 있다면 아마도 RING finger의 손실은



**Fig. 1.** The structure of BRCA1 demonstrating the N-terminal zinc finger, the C-terminal transactivation domain, and BRCT repeats. Interacting proteins and their approximate interacting sites are shown.

증식을 촉진하는 단백질의 정상 상태의 수준을 증가시키게 될 것이다. 또한 BRCA1 RING finger 영역은 BARD1 (BRCA1-associated RING domain 1)과 heterodimer를 이루는 지역이기도 하다.<sup>14)</sup> 최근에는 BAP1 (BRCA1-associated protein-1)이라는 탈 ubiquitin화(de-ubiquitinating) 효소와의 결합에도 이 영역이 관여하는 것으로 밝혀졌다.<sup>14)</sup> BAP이 다른 단백질의 BRCA1 ubiquitin화 또는 BRCA1 자체의 ubiquitin-의존성 분해를 조절하는지는 매우 흥미로운 일이 될 것이다.<sup>17,18)</sup> BRCA1의 C-말단에는 덜 보존된 반복 서열인 BRCT (BRCA1 C-terminal) 영역이 두 개 존재한다.<sup>19,20)</sup> BRCT 영역은 수선이나 세포 주기 조절에 관련된 단백질에서 많이 발견되는 원형의 영역으로써, tumor suppressor p53, RNA polymerase II, RNA helicase A, p300, CBP (CREB binding protein), BRCA2, retinoblastoma protein (pRB), histone-deacetylase complex, 그리고 CtIP 등과 직-간접적으로 결합하고 있다. 또한 BRCA1 단백질의 60% 이상을 암호화하는 exon 11은 두 개의 NLS (nuclear-localization signal: 핵으로 이동하게 하는 신호)를 가지고 있으며 RAD50, RAD51, RB 그리고 c-Myc 등과 상호작용을 한다(Fig. 1).<sup>21~27)</sup>

### BRCA1의 세포 내 발현과 세포주기

보통의 정상 세포에서 BRCA1은 핵에 존재하는 단백질이다.<sup>18)</sup> BRCA1에서 동정된 NLS 부위는 핵 수송 신호 수용체(nuclear transport signal receptor)

의 하위 단위체인 importin- $\alpha$ 와 결합한다.<sup>28,29)</sup> BRCA1 mRNA와 단백질은 세포 주기의 G1 후기에서 S기 동안에 그 발현이 증가하며 G1 후기와 S기 동안에 과인산화되고 M기 이후에 일시적으로 탈인산화된다.<sup>30)</sup> G1-S 전이에서의 BRCA1의 기능은 과인산화된 pRB에 결합하여 세포 주기의 진행을 중단시키는 것으로 알려지고 있다.<sup>31)</sup> G1-S 전이에서의 역할뿐만 아니라, BRCA1은 mitotic spindles의 assembly와 딸세포로의 적절한 염색체 분리를 조절함으로써 G2-M checkpoint를 조절한다.<sup>32,33)</sup> Brca1의 exon 11이 결손된 mouse embryonic fibroblast는 G1-S checkpoint는 정상이지만 G2-M checkpoint에서는 비정상적인 현상을 나타냈다.<sup>34)</sup> 그리고 상당히 많은 부분의 세포에서 centrosome이 증폭되어 있어 비정상적인 염색체의 분리가 일어났다.<sup>34)</sup> p53과 pRB를 포함하는 G2-M checkpoint를 조절하는 단백질은 centrosome에 위치하는데, BRCA1 또한 체세포분열동안 centrosome에 위치하며 centrosome의 구성요소인  $\gamma$  tubulin과 결합하는 것으로 밝혀져 있다.<sup>35)</sup> 또한 BRCA1에 돌연변이가 일어날 경우 centrosome duplication 조절이 되지 않아 유전적 불안정이 유도된다.<sup>36)</sup>

### 발생에서의 BRCA1의 발현

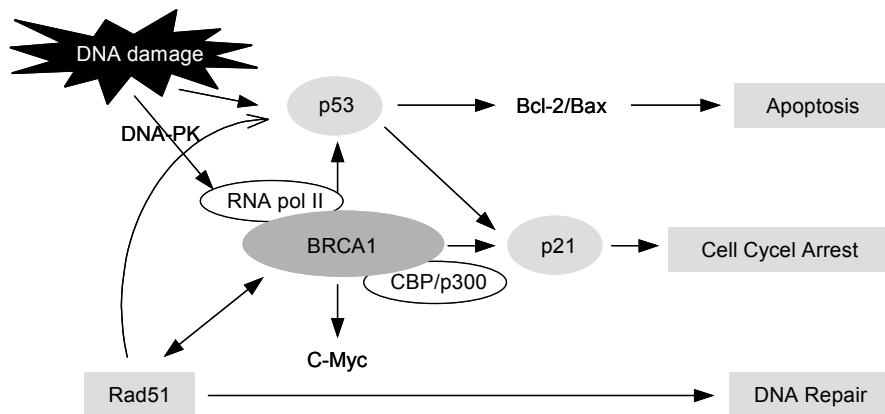
BRCA1과 BRCA2는 감상선과 정소에서 가장 많이 발현되고, 어디에서나 관찰되는 단백질이다. 또한 mouse의 발생과정에서 두 유전자는 빠르게 분열하거나 분화하는 조직에서 가장 높게 발현된

다. 유전 조직에서 두 유전자의 발현은 발생을 진행하면서 조절되고 있으며, 사춘기와 임신 중 증가하며 수유기간에는 감소한다.<sup>37,38)</sup> 또한, 난소호르몬에 의해 BRCA1의 발현이 BRCA2 보다는 훨씬 더 많이 증가하더라도 태아와 성체조직에서 두 유전자의 공간적-시간적 발현차이는 거의 없는데, 이것은 아마도 두 유전자가 같은 인자에 의해서 함께 조절되는 것으로 볼 수 있다. 한편 knockout을 통해 Brca1과 Brca2에 대한 몇 가지 다른 null 유전자를 homozygous하게 가지고 있는 mice를 만들었는데,<sup>8,39)</sup> 두 유전자 모두 null인 mice는 배아단계에서 치사를 일으켰다. 그리고 Rad51와 연관된 knockout mice를 이용한 실험에서 Brca1 및 Brca2는 초기 발생에서 중대한 역할을 하며, 그 기능이 소실되었을 때 발생이 중단되며 치사되는 것으로 보아 BRCA1과 BRCA2 유전자 모두 발생과정을 조절하는 중요한 인자로서 역할을 함을 잘 알 수 있다.<sup>40)</sup>

**DNA 손상 수선에서의 BRCA1의 역할**

BRCA1이 DNA 손상 수선에 관련되어 있다는 여러 가지의 증거들이 제시되어지고 있다. 그 첫 번째로 RAD50, RAD51, BRCA2와 같은 DNA-손상 수선 경로에 관련되는 여러 가지 단백질들과 BRCA1이 결합한다는 것이다.<sup>41,42)</sup> BRCA1은 효모

의 RecA의 homolog로 알려져 있는 RAD51과 결합을 할 뿐 아니라, DNA 손상 물질을 처리하였을 때 DNA 복제가 진행되는 곳의 핵 내 구조물에서 같은 곳에 위치하였다.<sup>42)</sup> RAD51은 DNA-손상 수선동안 BRCA1, BRCA2와 함께 안정된 복합체를 형성하며, RAD50 또한 *in vitro* 및 *in vivo*에서 BRCA1과 결합한다.<sup>19,43)</sup> DNA 손상에 반응하여 BRCA1에는 많은 변화가 일어나는데, 그 중 하나가 인산화이다. 이 때의 인산화는 G1-S 전이 동안 발생하는 인산화와는 그 위치가 다른데, DNA 손상에 따른 BRCA1의 인산화는 ATM에 의해 수행된다.<sup>44,45)</sup> 이로 인해 전사 억제자인 CtBP와 결합하는 것으로 알려져 있으며 그 기능은 밝혀지지 않은 CtIP에 의해 해리 된다. BRCA1에서 CtIP가 분리됨으로써 BRCA1이 DNA-손상 반응 유전자들의 전사를 활성화시키게 된다.<sup>46)</sup> 그러한 유전자 중의 하나가 BRCA1을 과다 발현시켰을 때 증가되는 GADD45로 여겨지고 있다(Fig. 2). 두 번째 증거는 BRCA1이 결핍된 embryonic stem (ES) 세포와 유전자 targeting을 사용한 형태학적인 분석에서 찾아볼 수 있다. BRCA1-결핍 ES 세포는  $\gamma$ -irradiation과 과산화수소와 같은 산화 물질에 대해 감수성이 매우 높게 나왔다.<sup>47)</sup> 뿐만 아니라, 수선되지 못한 DNA 손상의 직접적인 결과로 나타나는 비정상적인 염색체 수와 구조를 보였다.<sup>9)</sup> RAD51과 BRCA2가 targeting으로 파손된 embryo



**Fig. 2.** Multiple cellular functions for BRCA1. Some of the functions in which the protein have been implicated are shown, although the mechanisms underlying these putative functions remain unclear.

에서도 BRCA1이 없는 embryo와 유사한 형태를 보였다. 즉, 부분적으로 p53 돌연변이에서 회복되는 v-irradiation에 과민감성, 비정상적인 염색체, 빠른 배아 치사 등의 결과를 보였다.<sup>48)</sup> 또한 BRCA1, BRCA2 그리고 RAD51은 S기 세포에 hydroxyurea나 UV irradiation에 노출되었을 때 proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 복제 위치에서 동시에 존재하였다.<sup>49)</sup> DNA-손상 수선과의 연관성에 대한 직접적인 증거는 BRCA1-결핍 ES 세포의 기능적인 분석을 통해서 나타나게 되었는데 이들 세포에서는 전사-결합 수선(transcription-coupled repair)이 결핍되어 있다는 것을 발견되었다.<sup>47)</sup>

### 전사 조절에서의 BRCA1의 역할

BRCA1은 세포 내에서 유전자의 발현을 조절할 수 있기 때문에 전사 인자로 알려져 있다. 그 첫 번째 증거는 GAL4 DNA binding domain과 결합시켜 세포로 주입시켰을 때 GAL4 의존성 promoter가 활성화되었다는 사실이다.<sup>50,51)</sup> BRCA1의 C-말단에는 여러 가지 전사 조절 활성 인자 및 억제자와 결합하는 두 개의 BRCT domain을 가지고 있으며, 두 번째 BRCT domain은 p53과 결합하여 cyclin dependent kinase inhibitor p21 promoter의 p53-의존성 전사를 자극시킨다.<sup>52)</sup> 이 결과는 p53 경로와 BARD1의 기능을 연결시키므로 매우 중요한 의미를 지닌다. BRCA1이 p53의 DNA 결합력을 변화시켜 p53의 반응이 한 유전자 집단에서 다른 유전자 집단으로 이동하는 결과를 낼 수 있을 것이다. 다른 연구자의 보고에 의하면 BRCA1은 STAT1 (signal transducer and activator of transcription 1)에 결합하여 interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )에 의해 촉진되는 성장 억제를 증가시키는데 연관되어 있다고 한다.<sup>53)</sup> STAT1은 Janus kinase (JAK)에 의해 인산화되며 IFN- $\gamma$ 의 생물학적 효과를 수행하는 단백질이다.<sup>54)</sup> 세포에 IFN- $\gamma$ 를 처리하면 p21을 통한 성장 억제가 일어나는데 이때 BRCA1이 관련한다는 보고가 있다.<sup>20)</sup> 즉 BRCA1은 선택적으로 IFN- $\gamma$  표적 유전자를 조절할 수 있다. 최근에는 BRCA1의 표적 유전자를 동정하기 위해서 cDNA array를 사용한 접근을 시도하고 있다.<sup>55,56)</sup>

배양 세포에 BRCA1을 발현시키면 apoptosis가 일어나며 주 표적 유전자는 DNA-손상 반응 유전자인 GADD45라는 것이 밝혀졌다. GADD45의 증가는 JNK/SAPK-의존성 apoptosis를 야기한다.<sup>57)</sup>

한편 N-말단은 전사활성과 관련이 있을 것으로 추측되는 RING finger 구조를 포함하고 있다. 여기에 결합하고 있는 것으로 밝혀진 첫 번째 BIPs은 BARD1이다.<sup>58)</sup> BRCA1-BARD1 복합체는 polyadenylation factor인 CStF-50 (cleavage stimulation factor)과 결합하고 있다.<sup>59)</sup> CStF-50은 새로이 합성되는 RNA의 3' 말단에 결합하여 polyadenylation을 위한 절단점을 생성하는 역할을 하는데 이 활성은 BARD1에 의해 억제된다. 또한 BRCA1, BARD1 그리고 RAD51이 S기 동안 DNA가 손상된 부분에 함께 위치하는데, 이로부터 BRCA1이 BARD1을 통해 polyadenylation을 막아서 DNA 수선이 일어나는 곳에서 부적절한 RNA splicing이 일어나는 것을 막아주는 역할을 할 것으로 추정할 수 있다.<sup>59,60)</sup>

BRCA1은 전사를 촉진할 뿐 아니라 억제하는 기능도 가지는 것으로 알려져 있다. Yeast two-hybrid 방법을 사용하여 BRCA1이 helix-loop-helix 전사 인자인 *c-myc*과 결합하고 있다는 사실을 밝혔으며, *c-myc*은 종양유전자로 CDC25A와 같은 유전자들의 전사를 활성화시키는 것으로 알려져 있다.<sup>61)</sup> CDC25A promoter의 *c-myc* 결합 부위를 이용한 reporter assay를 사용한 결과 BRCA1이 *c-myc*의 전사활성을 농도-의존적으로 억제하였으며, 또한 BRCA1은 *c-myc*, *H-ras*의 형질전환 능력을 억제시켰다. 이러한 사실로서 BRCA1이 *c-myc*과 같은 종양 유전자의 작용을 억제시켜서 종양 형성을 막을 수 있을 것으로 추정할 수 있다.<sup>62)</sup> 또한 BRCA1이 estrogen receptor- $\alpha$  (ER- $\alpha$ )의 전사 활성 억제를 통해서 estrogen에 의해 유도되는 신호 전달을 억제한다는 사실이 밝혀졌다.<sup>63)</sup> 이것은 estrogen-ER- $\alpha$  신호가 유방암 생성에 매우 중요한 역할을 하기 때문에 BRCA1의 종양 억제 능력과 일치하는 결과이다.<sup>63,64)</sup>

### BRCA1 활성의 조절

비가속성 종양에서 BRCA1의 돌연변이는 거의

발견되지 않으며, 발현 자체도 매우 감소되어 있거나 확인할 수 없을 정도이다.<sup>65)</sup> 이러한 현상이 BRCA1의 발현이 낮은 세포들만 선택적으로 살아남은 결과인지 아닌지는 연구되어야 할 매우 중요한 과제이다. 왜냐하면 BRCA1의 발현이 높으면 세포의 증식이 억제되기 때문이다. 다시 말해서 종양세포는 BRCA1의 발현을 억제하는 능력을 획득함으로써 다른 세포들보다 성장의 우위를 점유하게 된다. 최근 BIPs에 관한 연구는 BRCA1의 발현과 활성이 매우 다양한 세포 내 작용기전을 통해서 조절될 수 있음을 보여주고 있다.

최근 ubiquitin-proteasome 경로가 RING finger를 포함하는 단백질들의 안정성을 조절하는데 관련이 있다는 연구 결과가 나왔다.<sup>66)</sup> 이에 BRCA1의 RING domain과 결합하는 단백질을 동정하는 연구가 시도되었는데, Jensen 등<sup>14)</sup>은 BAP1이 BRCA1의 RING domain과 결합하고 있음을 밝혔다. BAP1은 ubiquitin C-terminal hydrolase (UCH) family에 속하는 단백질이다. BAP1이 *in vitro*에서는 BRCA1과 결합을 하더라도 면역조직화학염색을 통한 *in vivo*상에서는 매우 적은 수만이 BRCA1과 같은 장소에 위치하고 있다.<sup>14)</sup> 그럼에도 불구하고 MCF-7 유방암세포에서 BAP1을 과발현시키면 BRCA1의 성장 억제 활성을 4배나 증가되는 것이 관찰되었다.<sup>14,67)</sup> BRCA1의 ubiquitination에 관여하는 단백질이 아직까지 동정되지 않았다 하더라도, ubiquitin-proteasome 경로에 의한 p53 단백질의 안정성 조절에 관한 최근 연구 결과는 BRCA1의 안정성 조절에 대한 작용기전을 유추할 수 있게 한다.<sup>17,18)</sup> MDM2는 p53을 ubiquitination시켜서 분해시킨다.<sup>68)</sup> 종양 억제자인 p19ARF는 MDM2와 결합하여 MDM2의 ubiquitin-ligase 활성을 저해시킴으로써 p53 단백질을 보호한다. 이처럼 BRCA1 ubiquitination에 관련된 새로운 단백질을 동정하여 조사하는 일은 매우 흥미있는 일이다.<sup>68,69)</sup>

인산화는 BRCA1 활성을 조절하는 또 다른 방식이다. BRCA1은 G1 후기와 S기 동안 과인산화되고 M기 이후 초기에 일시적으로 탈인산화된다.<sup>28,70)</sup> 또 정상 세포가  $\gamma$ -irradiation에 노출되면 BRCA1이 과인산화된다. 하지만, AT 환자에서 유래한 ATM-deficient fibroblasts (mutated in ataxia telangiectasia)와 lymphoblast 세포는  $\gamma$ -irradiation이

후 BRCA1이 과인산화가 되지 않는데, 이것은 BRCA1의 과인산화는 ATM의 활성화에 의존함을 시사하는 것이다.<sup>45,71)</sup> Cortez 등<sup>44)</sup>은 *in vivo*와 *in vitro* 상에서 ATM이 serine-glutamine 잔기가 모여 있는 많은 곳에서 BRCA1을 인산화시킨다는 것을 증명하였다. BRCA1의 인산화 장소인 S1432와 S1532에 missense 돌연변이가 일어나면 BRCA1-deficient 세포주의 radiation 과민감성이 회복되지 않기 때문에 이들 영역의 인산화는 기능적으로 매우 중요하다.<sup>44)</sup> 이 연구는 BRCA1의 활성이 인산화에 의해서 조절된다는 직접적인 증거를 제공하고 있다. 또한 ATM-/- 세포와 BRCA1-/- 세포는 비정상적인 G2-M checkpoint 조절, DNA 손상 물질에 의한 민감도 등을 포함하는 표현형상의 많은 부분에서 유사성을 공유하고 있다. BRCA1과 ATM사이의 결합은 이러한 표현형상의 유사성에 대한 근거가 되고 있다.<sup>46,72)</sup> Cdk2 및 casein kinase II를 포함하는 몇몇 단백질들 또한 각각의 독특한 위치에서 BRCA1과 결합하여 인산화시키는 것으로 알려져 있다.<sup>73)</sup> 하지만 아직 이들의 생물학적인 중요성은 연구되어야 할 과제로 남아 있다. Transcriptional silencing은 CpG island의 methylation을 통해서 수행될 수 있다.<sup>74)</sup> BRCA1의 5' 말단 쪽에 있는 조절 지역은 GC content가 56%나 되는 TATA-less promoter를 가지고 있다. 이러한 사실은 이 유전자가 CpG methylation을 통해서 전사 조절이 될 수 있음을 시사하는 매우 유력한 단서가 된다.<sup>75)</sup> 정상 세포에서 BRCA1 promoter에 있는 CpG dinucleotides는 unmethylated되어 있어서 전사가 일어나지만, 유방암 및 자궁암에서는 전사 개시점 주위의 특정 CpG 잔기가 methylation되어서 BRCA1의 전사가 일어나지 않는다.<sup>76)</sup> BRCA1의 promoter에는 많은 전사인자들이 결합할 수 있는 motif를 포함하고 있다. 그 중 하나는 methylation-sensitive cAMP-response element binding (CREB) site이다.<sup>76)</sup> 이 곳은 몇몇 유방암에서 비정상적으로 methylation되어 있으며 따라서 BRCA1이 매우 적게 발현된다. BRCA2는 정상이나 종양 조직에서 methylation되어 있지 않기 때문에 BRCA1의 전사가 CpG-island methylation에 의해 감소 조절된다는 사실은 매우 중요하게 여겨지고 있다.<sup>77)</sup>

## 성장조절에서의 BRCA1의 역할

BRCA1이 세포 증식을 직접 조절하는가? 이것은 상당한 논쟁이 되고 있는 질문이다. Brca1-null embryo의 돌연변이 분석을 통해서 Brca1의 기능적 소실은 세포 증식을 저해한다는 사실이 밝혀졌다. 왜냐하면 돌연변이 embryo는 극심한 성장 결손으로 인해서 배아 발생의 초기 단계동안 사망하기 때문이다.<sup>78)</sup> 게다가 Cre-LoxP approach를 사용해서 유방 표피 세포에서 Brca1에 conditional mutation을 일으켰을 때 chromosomal abnormality, 광범위한 apoptosis 등이 관찰되었다.<sup>79)</sup> 또 유방 종양 형성은 오랜 잠복기 이후에 형성되고 유전적 불안정성과 p53 전사의 변형 등과 연관되어 있었다. 이러한 결과들은 BRCA1이 없으면 곧바로 종양형성을 시작하는 게 아니라 유전적인 불안정을 일으키고, 이것이 p53의 불활성을 포함하는 또 다른 변형을 일어나게 하며 결국 종양형성을 일으키게 된다.<sup>9)</sup> BRCA1 가족성 유방암은 chromosome abnormalities가 증가되어 있으며 p53 돌연변이율이 매우 높다.<sup>9,80)</sup> 이것은 위와 같은 모델에 부합되는 것이다. 반면, BRCA1이 직접적으로 성장 조절에 관련되어 있다는 연구도 활발히 진행되고 있다. Antisense oligonucleotide를 사용하여 BRCA1의 발현을 억제했을 때 정상 세포와 종양 세포 모두 성장이 가속화되었으며, 종양 세포에 wild-type BRCA1을 삽입시켰을 때는 세포 증식이 억제되었다.<sup>81,82)</sup> 하지만, 이러한 성장 억제는 폐암 혹은 대장암 세포에서는 일어나지 않고 유방암과 난소암 세포와 같은 특이적인 세포 형태에서만 일어나는 현상이었다. BRCA1의 직접적인 성장 조절에 관한 난해한 문제들이 최근 들어 BRCA1에 의한 성장 억제가 pRB에 의존적이라는 증거가 제시되면서 풀리게 되었다. 여러 종류의 세포들을 사용하여 실험을 한 결과 wild-type pRB를 가지고 있는 세포만이 BRCA1에 의한 성장 억제를 일으켰다.<sup>70,71)</sup> 이후 BRCA1은 탈인산화된 pRB에만 결합한다는 사실이 밝혀졌다. 탈인산화된 pRB는 E2F와 결합하여 세포 증식에 관련된 유전자들의 전사를 억제하기 때문에 BRCA1은 pRB를 탈인산화된 상태로 유지시켜 세포의 성장을 억제하는 것

이다.<sup>83)</sup> 또한 BRCA1-pRB 복합체는 histone-deacetylase 복합체와 결합하는 것으로 알려져 있으며, pRB-histone-deacetylase 복합체는 E2F-responsive 유전자의 전사를 억제하는 것으로 밝혀져 있다.<sup>84,85)</sup> 이것은 pRB를 통한 BRCA1의 성장 억제 기전에 부합되는 또 하나의 단서가 된다.

## 결론 및 앞으로의 과제

BRCA1이 전사 조절 능력을 가진다는 증거를 요약하면 다음과 같다. 1) BRCA1의 C-말단이 다른 단백질의 DNA-binding domain과 결합을 시켰을 때 전사조절 활성 domain으로 작용한다. 2) BRCA1은 RNA polymerase II (core and holoenzyme)와 복합체를 이룬다. 3) BRCA1의 발현을 임의로 증가시키면 다양한 유전자의 promoter가 활성화된다. 4) 몇몇 BIP은 전사 조절에서 매우 잘 알려진 단백질들이다. 한편 BRCA1의 가장 큰 특징은 다양한 세포 내 기능을 가지고 있는 분자들과 직-간접적으로 결합하고 있다는 것이다. 이러한 BIPs를 통해서 BRCA1의 기능을 유추할 수는 있다. 예를 들어, 전사 조절에서의 활성과 억제, DNA 손상 수선, 세포 주기 checkpoint 조절, 중심체 복제, 세포 증식 등에 관련된 다양한 생물학적 경로에 있는 단백질과 결합을 하고 있다. 하지만, 아직 명확하게 정설로 밝혀진 것은 아니다. BRCA1은 유방과 난소 외에 다양한 조직에서 발현이 된다. 하지만 BRCA1과 연관된 종양 여성은 유방과 난소에 선택적으로 나타나는 이유는 무엇인가? 다른 조직에 BRCA1의 하류단계 조절자나 partner가 없기 때문인지, BRCA1이 없을 때 기능을 할 수 있는 다른 종양 억제 유전자 있기 때문인지에 대한 의문이 제기된다. 또는 BRCA1과 연관된 유방암과 난소암을 증가시키는 혹은 다른 조직에서 종양형성을 억제할 수 있는 특이적인 조절자가 있을 가능성도 생각해 볼 수 있다. 더구나 p21의 발현을 조절하는 BRCA1의 기능에 대해서는 논란의 여지가 많다. 만일 BRCA1이 p21의 발현을 활성화시킨다면 왜 BRCA1이 없는 세포가 완전한 G1/S 세포주기 checkpoint를 가지고 있는 것일까? 이와 같이 앞으로의 연구방향은 BRCA1과 각각의 BIP의 결합이 특이적인지 비특이적인지, 그리고

실제로 BRCA1의 기능을 발휘하고 있는지에 대한 물리적인 중요성을 밝히는데 초점을 맞추어야 할 것이다. 게다가 계속해서 또 다른 BIP들을 동정해야하고 BRCA1의 하위단계의 전사조절 표적들을 동정해야할 것이다. 또한 보통의 발달과정과 종양형성과정동안에 BRCA1의 발현과 안정성이 어떻게 조절되는 지도 연구되어야 한다. 이러한 노력들은 치사성이 높은 이 유전병을 치료함에 있어서 매우 유용하게 적용될 것이다.

### 참고 문헌

- 1) Brodie SG, Deng C. *Trends Genet* 2001; 17: S18-22.
- 2) Alberg AJ, et al. *Curr Opin Oncol* 1997; 9: 505-511.
- 3) Miki Y, et al. *Science* 1994; 266: 66-71.
- 4) Wooster R, et al. *Science* 1994; 265: 2088-2090.
- 5) Antoniou AC, et al. *Genet Epidemiol* 2001; 21: 1-18.
- 6) Easton D. *Nat Genet* 1997; 16: 210-211.
- 7) Hakem R, et al. *Cell* 1996; 85: 1009-1023.
- 8) Hakem R, et al. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1998; 3: 431-445.
- 9) Shen SX, et al. *Oncogene* 1998; 17: 3115-3124.
- 10) Yu V. *Breast Cancer Res* 2000; 2: 82-85.
- 11) Dimitrov SD, et al. *Folia Biol (Krakow)* 2001; 47: 120-127.
- 12) Wu LC, et al. *Nat Genet* 1996; 14: 430-440.
- 13) Jin Y, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 12075-12080.
- 14) Jensen DE, et al. *Oncogene* 1998; 16: 1097-1112.
- 15) Hashizume R, et al. *J Biol Chem* 2001; 276: 14537-14540.
- 16) Lorick KL, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 11364-11369.
- 17) Blagosklonny MV, et al. *Oncogene* 1999; 18: 6460-6468.
- 18) Choi YH. *Int J Oncol* 2001; 19: 687-693.
- 19) Ouchi T, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 2302-2306.
- 20) Chai YL, et al. *Oncogene* 1999; 18: 263-268.
- 21) Huyton T, et al. *Mutat Res* 2000; 460: 319-332.
- 22) Deng CX, Brodie SG. *Bioessays* 2000; 22: 728-737.
- 23) Miyake T, et al. *J Biol Chem* 2000; 275: 40169-40173.
- 24) Fan S, et al. *Oncogene* 2001; 20: 77-87.
- 25) Yamane K, et al. *Oncogene* 2001; 20: 2859-2867.
- 26) Makiniemi M, et al. *J Biol Chem* 2001; 276: 30399-30406.
- 27) Dulic A, et al. *Biochemistry* 2001; 40: 5906-5913.
- 28) Chen Y, et al. *Cancer Res* 1996; 56: 3168-3172.
- 29) Li S, et al. *J Biol Chem* 1998; 273: 6183-6189.
- 30) Gudas JM, et al. *Cell Growth Differ* 1996; 7: 717-723.
- 31) Satterwhite DJ, et al. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 276: 686-692.
- 32) Zabludoff SD, et al. *Oncogene* 1996; 13: 649-653.
- 33) Blackshear PE, et al. *Oncogene* 1998; 16: 61-68.
- 34) Xu X, et al. *Mol Cell* 1999; 3: 389-395.
- 35) Hsu LC, White RL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 12983-12988.
- 36) Deng CX. *Mutat Res* 2001; 477: 183-189.
- 37) Bertwistle D, Ashworth A. *Curr Opin Genet Dev* 1998; 8: 14-20.
- 38) Welcsh PL, et al. *Trends Genet* 2000; 16: 69-74.
- 39) Bhattacharyya A, et al. *J Biol Chem* 2000; 275: 23899-23903.
- 40) Irminger-Finger I, et al. *Biol Chem* 1999; 380: 117-128.
- 41) Scully R, et al. *Cell* 1997a; 88: 265-275.
- 42) Scully R, et al. *Cell* 1997b; 90: 425-435.
- 43) Zhong Q, et al. *Science* 1999; 285: 747-750.
- 44) Cortez D, et al. *Science* 1999; 286: 1162-1166.
- 45) Gatei M, et al. *Cancer Res* 2000; 60: 3299-3304.
- 46) Li S, et al. *Nature* 2000; 406: 210-215.
- 47) Gowen LC, et al. *Science* 1998; 281: 1009-1012.
- 48) Brugarolas J, Jacks T. *Nat Med* 1997; 3: 721-722.
- 49) Chen J, et al. *Mol Cell* 1998; 2: 317-328.
- 50) Monteiro AN, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 13595-13599.
- 51) Chapman MS, Verma IM. *Nature* 1996; 382: 678-679.
- 52) Callebaut I, Mornon JP. *FEBS Lett* 1997; 400: 25-30.
- 53) Ouchi T, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 5208-5213.
- 54) Leonard WJ, *Int J Hematol* 2001; 73: 271-277.
- 55) Favis R, et al. *Nat Biotechnol* 2000; 18: 561-564.
- 56) Tian H, et al. *Genomics* 2000; 63: 25-34.
- 57) Harkin DP, et al. *Cell* 1999; 97: 575-586.
- 58) Meza JE, et al. *J Biol Chem* 1999; 274: 5659-5665.
- 59) Kleiman FE, Manley JL. *Science* 1999; 285: 1576-1579.
- 60) Kleiman FE, Manley JL. *Cell* 2001; 104: 743-753.
- 61) Wang Q, et al. *Oncogene* 1998; 17: 1939-1948.
- 62) Aunoble B, et al. *Int J Oncol* 2000; 16: 567-576.
- 63) Fan S, et al. *Science* 1999; 284: 1354-1356.
- 64) Fan S, et al. *Oncogene* 2001; 20: 4827-4841.
- 65) Futreal PA, et al. *Science* 1994; 266: 120-122.
- 66) Joazeiro CA, et al. *Science* 1999; 286: 309-312.
- 67) Jensen DE, Rauscher FJ 3rd. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 886: 191-194.



- 68) Daujat S, et al. *Trends Genet* 2001; 17: 459-464.  
69) Honda R, Yasuda H. *EMBO J* 1999; 18: 22-27.  
70) Thomas JE, et al. *Cell Growth Differ* 1997; 8: 801-809.  
71) Xu B, et al. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 3445-3450.  
72) Dasika GK, et al. *Oncogene* 1999; 18: 7883-7899.  
73) O'Brien KA, et al. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 260: 658-664.  
74) Ballestar E, Wolffe AP. *Eur J Biochem* 2001; 268: 1-6.  
75) Rice JC, et al. *Oncogene* 1998; 17: 1807-1812.  
76) Mancini DN, et al. *Oncogene* 1998; 16: 1161-1169.  
77) Collins N, et al. *Br J Cancer* 1997; 76: 1150-1156.  
78) Hakem R, et al. *Nat Genet* 1997; 16: 298-302.  
79) Hohenstein P, et al. *Oncogene* 2001; 20: 2544-2550.  
80) Deng CX, Scott F, *Oncogene* 2000; 19: 1059-1064.  
81) Marquis ST, et al. *Nat Genet* 1995; 11: 17-26.  
82) Campbell MJ, et al. *Oncogene*. 2000; 19: 5091-5097.  
83) Muchardt C, Yaniv M. *Oncogene* 2001; 20: 3067-3075.  
84) Yarden RI, Brody LC. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 4983-4988.  
85) Zheng L, et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 9587-9592.
-