

**형성과 엽산 수준이 태반 DNA methylation 에 미치는 영향**  
**The risk of Methylentetrahydrofolate reductase(MTHFR) genetic Polymorphism and methylation status by folate during pregnancy**

박보현<sup>1)</sup>, 홍주희<sup>1)</sup>, 이화영<sup>2)</sup>, 김영주<sup>3)</sup>, 하은희<sup>1)</sup>, 박혜숙<sup>1)</sup>

(1) 이화여자대학교 의과대학 예방의학교실, (2) 이화여자대학교 의과대학 산부인과학교실, (3) 이화여자대학교 의과대학 해부학교실

**목적:** 과거 연구들에 의하면 많은 산과적 문제들이 고호모시스테인혈증과 연관이 되어 있다. 임신기간 동안 엽산의 결핍은 MTHFR 유전자와 상호작용하여 호모시스테인 농도를 높여 태아 또는 태반의 세포 성장과 재생에 장애를 초래하여 조기분만 및 자궁 내 발육지연을 일으킬 수 있다. 또한 S-adenosylhomocysteine(SAH)의 농도가 높아져 transmethylation reaction이 억제되어 DNA methylation상의 변화가 일어나 유전자의 발현과 integrity에 영향을 줌으로서 혈관의 생리학적 인 변화가 생기게 된다. 따라서 본 연구에서는 모체의 MTHFR 유전자 다형성과 임신 기간동안의 엽산 수준이 태반조직에서 DNA methylation에 미치는 영향을 평가하고자 하였다.

**방법:** 산전 진찰을 위해 E대학 산부인과에 내원한 임신 24-28주의 임신중기의 건강한 임신부 중 연구 참여에 동의하고 동 병원에서 출산한 산모를 대상으로 코호트를 구축하였다. 훈련된 간호사가 대상 산모에게 인구학적 특성, 임신 및 출산관련 특성, 건강행태, 건강상태, 식이요인 등의 문항을 포함하고 있는 구조화된 설문지를 자가 기입식 설문지에 근거하여 조사하였다. 공복 시 정맥혈을 채취하여 High Performance Lipid Chromatography(HPLC)-fluorescence detection method에 의해 혈청 내 호모시스테인 농도를 측정하였고, Radioimmunoassay kit를 이용하여 혈청 내 엽산의 농도 측정하였다. 산모의 DNA로 PCR-RFLP 방법으로 MTHFR 유전자 다형성을 측정하였다. 연구대상자의 분만 시 태반을 수집하여 면역조직화학염색 방법으로 global DNA hypomethylation을 평가하였다.

**결과:** 엽산 농도가 6.8nmol/l 보다 낮게 측정된 산모를 위험군으로 하여 대상자를 구분하였을 때 위험군에서 태반 세포의 methylation 발현양은 33.6%였으며 정상군에서 40.2%로 6.8nmol/l 이상의 농도군에서 methylation 발현양이 높았다. 호모시스테인은 상위 90%인 15.42umol/l을 기준으로 하여 농도 이상인 군을 위험군으로 하였을 때 위험군에서 32.6%, 정상군에서 46.1%로 메틸레이션 발현 양상이 관찰되어 호모시스테인 농도가 높은 군에서 hypomethylation이 일어남이 관찰되었다. MTHFR 유전자다형성과 methylation 발현과의 연관성은 현재 분석 단계에 있다.

**결론:** 본 연구에서는 임신 중 엽산과 호모시스테인 농도가 태반 세포의 메틸레이션에 영향을 주는 것으로 나타났으며 MTHFR 유전자형성이 태반 세포의 메틸레이션에 영향을 줄 것으로 생각되어진다.

연구지원기관: 한국한술진흥 연구재단(KRF-2004-003-E00058)

**KSPM-60**

**성장호르몬과 여성 호르몬 대체요법이 백혈구 telomerase 활성에 미치는 영향**

**The Effect on blood telomerase activity of Human Growth hor-**

**mone and Estrogen replacement therapy**

김중원<sup>1)</sup>, 김용대<sup>1)</sup>, 구승엽<sup>2)</sup>, 구병삼<sup>3)</sup>, 이철호<sup>1)</sup>, 노성일<sup>1)</sup>, 엄상용<sup>1)</sup>, 고영준<sup>1)</sup>, 김현<sup>1)</sup>

(1)충북대학교 의과대학 예방의학교실, (2)서울대학교 의과대학 산부인과학교실, (3)한국노화방지연구소, 서울AM 클리닉

**목적:** 체세포는 분열할 때 마다 염색체 말단에 위치하여 DNA를 보호하는 기능을 하는 telomere 길이가 짧아지며 telomere 길이가 점차 짧아져서 어느 한도 이하가 되면 더 이상 세포분열을 하지 못하는 것으로 알려져 있다. Telomerase는 짧아진 telomere를 연장시켜서 세포가 다시 분열을 할 수 있게 하는 기능을 하며 체세포에는 이 효소의 활성이 없거나 매우 낮은 것으로 알려져 왔으나 최근 말초 혈액의 백혈구에서 활성이 나타난다는 보고가 있다. 본 연구에서는 성장호르몬과 여성 호르몬 대체요법이 말초혈액 백혈구의 telomerase 활성에 미치는 영향을 평가하고자 수행되었다.

**방법:** 서울대학교병원 산부인과학교실과 서울 AM 클리닉에서 성장호르몬(human growth hormone replacement therapy; hGHRT) 또는 여성호르몬 대체요법(estrogen replacement therapy; ERT)을 6개월 이상 받고있는 치료군을 모집하였고 충북 지역에서 지역사회 대조군을 모집하였다. 성장호르몬은 주 5회 0.5-1 IU 피하주사하였고 여성 호르몬은 conjugated equine estrogen (CEE)를 매일 0.3-0.625 mg씩 경구 투여하였다. 남성 대상자는 성장호르몬 대체요법을 받은 사람이 6명, 지역사회 대조군이 10명이었고 여성 대상자는 성장호르몬과 여성호르몬을 함께 받은 사람이 7명, 성장 호르몬만 받은 사람이 5명, 여성 호르몬만 받은 사람이 6명, 대조군이 15명으로 모두 109명이 연구에 참여하였다. 정맥혈을 채취하여 EDTA로 항응고 처리하여 분석할 때 까지 섭씨 영하 80도에서 보관하였다. Telomerase 활성은 상용화된 TRAP assay kit (Telo TAGGG Telomerase PCR ELISA, Roche, Penzberg, Germany)를 사용하여 측정하였다. Buffy coat에서 단백질을 추출하여 50 µg의 단백질의 telomerase 활성을 측정하였고 450nm에서 OD를 측정하여(OD450nm/50µg protein) telomerase 활성으로 하였다. 남성과 여성으로 구분하여 ANOVA로 분석하였고 연령을 보정하기 위해 GLM으로 분석하였다.

**결과:** 남성 hGHRT 군의 telomerase 활성은 0.27±0.18 OD450nm/50µg protein 로 대조군 0.22±0.12에 비해 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 아니었다. hGHRT와 ERT를 함께 받은 여성의 telomerase 활성은 0.41±0.29로 hGHRT만 받은 군의 0.17±0.10, ERT만 받은 군의 0.15±0.14와 대조군의 0.13±0.05에 비해 유의하게 높았다. 성장호르몬과 여성 호르몬 대체요법군의 telomerase 활성은 대조군에 비해 높았지만 유의한 차이는 아니었다. 연령을 보정한 다변량분석에서 여성에서 hGHRT는 telomerase 활성을 유의하게 증가시키는 변수로 나타났다으며 연령은 유의한 관련성을 보이지 않았다. 모든 군에서 연령과 telomerase 활성간에는 유의한 관련성이 관찰되지 않았다.

**결론:** 이러한 결과는 hGHRT와 ERT를 동시에 할 경우 여성에서 말초혈액 백혈구의 telomerase 활성을 유의하게 증가시킨다는 것을 시사하는 것이다. 아직까지 체세포의 telomerase 활성을 변화시키는 치료방법이 보고된 바 없어 본 연구 결과가 최초의 보고인 것으로 판단된다. 이 결과의 임상적 의의에 대해서는 추가적인 연구가 요구

된다.

#### KSPM-75

### Gene-gene interaction of CCND1, ESR1 and CDK7 on the risk of breast cancer detected by multifactor dimensionality reduction and logistic regression

#### 유방암과 CCND1, ESR1, CDK7 유전자 다형성의 상호작용; 로지스틱 회귀분석과 multifactor dimensionality reduction (MDR)의 분석 비교

최지엽<sup>1)</sup>, Marylyn D. Ritchie<sup>2)</sup>, Alison A. Motsinger<sup>2)</sup>, 이경무<sup>1)</sup>, 노동영<sup>3)</sup>, 유근영<sup>1)</sup>, Jason H. Moore<sup>2)</sup>, 강대희<sup>1)</sup>

(1) 서울대학교 의과대학 예방의학교실, (2) Department of Molecular Physiology & Biophysics Center for Human Genetics Research, Vanderbilt University, (3) 서울대학교 의과대학 의과학교실

**Objectives:** Estrogens induce cell proliferation by stimulating progression through the G1 phase of the cell cycle. Cyclin D1 complex, which plays a critical role in the G1/S cell cycle checkpoint, is activated by cyclin dependent kinase 7 (CDK7) complex. The activity of estrogen receptor alpha (ESR1) is modulated by phosphorylation through CDK7. We assessed whether the single nucleotide polymorphisms (SNPs) of selected genes involved in the cell cycle regulation, e.g. CCND1 (G870A), ESR1 (P325P, T594T), and CDK7 (C99T) were involved in the risk of sporadic breast cancer in Korean women.

**Methods:** A case-control study was conducted consisting of histologically confirmed breast cancer cases (N=695) and controls (N=533) with no present or previous history of cancer recruited from three teaching hospital in Seoul during 1995-2002. SNPs of CCND1, ESR1, and CDK7 were determined by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry. To identify the polymorphism associated with breast cancer risk, we investigated the data using both the multifactor dimensionality reduction (MDR) and the logistic regression. The gene-gene interaction between the SNPs on the breast cancer was also evaluated by comparing the MDR with the logistic regression.

**Results:** CCND1 AA genotype (OR=1.6, 95% CI=1.11-2.25) and CDK7 TT genotype (OR=1.8, 95% CI=1.25-2.61) significantly increased the risk of breast cancer by the logistic regression analysis. Although in the absence of any statistically significant independent main effects of ESR1 genetic polymorphisms, the MDR identified a statistically significant gene-gene interaction between CDK7 TT and ESR1 CC of P325P ( $p < 0.001$ ). The significant gene-gene interaction was also observed by the logistic regression ( $p$  for interaction=0.002) the CDK7 TT genotype 4.8 fold increased the risk of breast cancer in women with ESR1 CC genotype of P325P (OR=4.8, 95% CI=2.17-10.13). The relationship was constant after adjusting the other significant environmental factors.

**Conclusion:** These results suggest that the gene-gene interaction between CDK7 and ESR1 was observed by both MDR and logistic regression analysis. The MDR could be the alternative and complementary approach

for analyzing the SNP data even in absence of any statistically significant main genetic effects.

#### KSPM-96

### MSX1 유전자의 sequencing을 통한 구순 구개열 발생 관련 유전자 연구

#### MSX1 gene polymorphisms in Korean nonsyndromic cleft lip and palate patients : Case-control study

박정윤<sup>1)</sup>, 박병윤<sup>2)</sup>, 김현숙<sup>3)</sup>, 이종은<sup>4)</sup>, 남정모<sup>5)</sup>, 김숙<sup>4)</sup>, 서일<sup>5)</sup>, 지선하<sup>6)</sup>, 강대룡<sup>5)</sup>

(1) 연세대학교 대학원 보건학과, (2) 연세대학교 의과대학 성형외과학교실, (3) 연세대학교 의과대학 진단검사의학교실, (4) DNALink, (5) 연세대학교 의과대학 예방의학교실, (6) 연세대학교 보건대학원 국민건강증진연구소

**목적:** 구순 구개열(Non-syndromic cleft lip with or without palate(NSCL/P))은 안면부에서 가장 흔한 기형이다. 전 세계적으로 500-1000명당 1명 정도의 발생을 보이며 구순 구개열의 발생원인은 아직 명확하게 규명되지 못했으나 유전적인 요인, 임신 중 태내 환경, 기타 환경적인 요소로서 발생한다고 생각되어지고 있다. 본 연구는 구순 구개열의 원인과 관련한 유전자로서 가장 많이 연구되어지는 MSX1을 우리나라 사람을 대상으로 염기서열을 분석하였고 환자 대조군 분석을 통하여 질병과 연관성을 보이는 단일염기 다형성을 비교 분석하였다.

**방법:** 본 연구의 환자군은 세브란스병원 성형외과에 내원한 Non-syndromic cleft lip with/without palate 환자 52명이었다. 대상자들은 혈액을 채취하였고 유전 연구에 동참한다는 동의서와 설문지를 받았다. 대조군은 남녀 96명을 대상으로 혈액을 채취하였다. 여성 대조군 48명은 세브란스 병원 산부인과에 건강검진으로 내원한 40세에서 50세 사이의 질병력이 없고 건강한 여성이 대상이었고 남성 대조군은 현재 병원에 근무하고 있는 근로자로서 건강검진 수검자 중에서 건강문제가 없는 20-60대 사이의 남성 48명을 대상으로 하였다. 환자군과 대조군은 혈액을 채취하여 DNA를 분리하였고 여성 대조군 48명을 대상으로 염기 분석하였다. 증폭된 산물들은 ABI Prism 3700을 이용하여 분석하였고 HAPLOVIEW를 이용하여 LD를 분석하였다. HWE와 D' 통계, LD, 환자 대조군 분석은 SAS Genetics ver. 9.1.2로 확인하였다.

**결과:** MSX1의 단일 염기 다형성은 exon1과 exon2 사이의 intron을 제외하고 promoter region을 포함한 9.8kb의 범위를 분석하였는데 exon 1에서 3개의 다형성이 나타났고 exon 2에서 2개, Promoter region에서 9개의 다형성을 발견할 수 있었다. 총 14개 중에서 이미 발표된 다형성은 5개였고 9개는 발표가 되지 않은 다형성이었으며 최종적으로 genotyping 대상 다형성은 -1836G/A, -1508C/A, -1507G/A, G24S, A34G, G110G, 1170G/A가 선택되었다. 분석에 이용된 유전자 MSX1은 7개의 SNP를 분석하였다. 환자 대조군에서 비차이를 구한 결과 통계적으로 유의한 결과를 보인 SNP는 없었으나 MSX1의 두 번째 exon의 1170G/A에서 유의한 allele trend( $p$ -val-