

N-Acetyltransferase 2와 glutathione S-transferase mu 및 theta 다형성이 방광암 발생에 미치는 영향에 대한 환자-대조군 연구*

김현¹, 김원재², 이형래², 이무송³, 김철환¹, 김로사¹, 남홍매¹

충북대학교 의과대학 예방의학교실¹ 및 비뇨기과학교실²

울산대학교 의과대학 예방의학교실³

= Abstract =

A case-control study on the effects of the genetic polymorphisms of N-acetyltransferase 2 and glutathione S-transferase mu and theta on the risk of bladder cancer

Heon Kim¹, Wun-Jae Kim², Hyung-Lae Lee², Moo-Song Lee³,
Cheol-Hwan Kim¹, Rosa Kim¹, Hongmei Nan¹

Department of Preventive Medicine¹ and Department of Urology²,

College of Medicine, Chungbuk National University

Department of Preventive Medicine,

University of Ulsan College of Medicine³

Activities of enzymes involved in the metabolism of various carcinogenic xenobiotics is one of the most important host factors for cancer occurrence. N-acetyltransferase (NAT) and glutathione S-transferases (GST) are enzymes which reduce the toxicity of activated carcinogenic metabolites. Slow N-acetylation and lack of GST mu (GSTM1) were reported as risk factors of bladder cancer. GST theta (GSTT1), which is another type of GST, was reported to be deleted at higher proportion among Koreans. Since cause of bladder cancer is not fully explained by single risk factor, many kinds of enzymes would be involved in the metabolism of carcinogens excreted in urine.

This study was performed to investigate whether the polymorphisms of NAT2, GSTM1 and GSTT1 are risk factors of bladder cancer and to evaluate the effects of

* 이 연구는 1996년도 한국과학재단 핵심전문연구비의 지원으로 이루어졌음.

their interaction on bladder cancer development. Sixty-seven bladder cancer and 67 age- and sex-matched non-cancer patients hospitalized in Chungbuk National University Hospital from March to December 1996, are the subjects of this case-control study. Questionnaire interview was done and the genotypes of NAT2, GSTM1 and GSTT1 were identified using PCR methods with DNA extracted from venous blood. The effects of the polymorphism of NAT2 and GSTM1 and their interaction on bladder cancer were statistically tested after controlling the other risk factors.

The frequencies of slow, intermediate, and rapid acetylators were 3.0%, 38.8%, and 58.2% for the cases, and 7.6%, 40.9%, and 51.5% for the controls, respectively. The risk of bladder cancer was not associated with the increase of NAT2 activity ($\chi^2_{\text{trend}}=1.18$, P-value>0.05). GSTM1 was deleted in 68.7% of the cases and 49.3% of the controls ($\chi^2=5.21$, P-value<0.05), and the odds ratio (95% CI) was 2.23 (1.12 - 4.56). GSTT1 deletion, the rate of which were 26.9% for the bladder cancer patients and 43.3% for the controls, was a significant protective factor against bladder cancer. Smoking history turned out to be insignificant as a risk factor of bladder cancer (OR=1.85, 95%CI: 0.85 - 4.03), and occupation could not be tested because of the extremely small number of occupational history related to the increase of bladder cancer. In multiple logistic analysis controlling the effects of other risk factors, GSTM1 deletion was the only significant risk factor for bladder cancer (OR: 2.56, 95% CI: 1.22-5.36, P-value<0.05), but slow acetylation and GSTT1 deletion were not.

These results suggest that GSTM1 deletion may be a significant risk factor of bladder cancer. Since there have been much debates on causal relationship between slow acetylation and GSTT1 deletion, and bladder cancer, further studies are needed.

Key words :

I. 서 론

발암물질에 의한 암발생의 첫 단계는 외부에서 유입된 이물질(xenobiotics)이 인체 내에서 대사과정을 거쳐서 전자친화성이 강한 중간 대사물질을 형성하고, 이 대사산물이 DNA나 그 외의 거대분자와 공유 결합하는 것으로 생각하고 있다(Tsuchida 등, 1992). 그러므로 약물의 대사와 배설에 관여하는 효소의 활성이 개체의 차이를 결정하는 가장 중요한 요인이다. Aryl hydrocarbon N-acetyltransferase(이하 NAT)는 이물질 대사에 관여하는 효소로서, 체내 대사를 거쳐서 활성화된 각종 발암물질의 대사산물에 작용하여 그 독성을 줄이는 역할을 한다. 예를 들어, arylamine은 체내의 대사과정에 의하여 활성화되어 강력한 변

이원성을 나타내게 되는데, 이 물질이 NAT에 의하여 N-acetylation되어 amide 형태로 변화하게 되면 독성이 거의 없는 물질이 된다. 그러나 NAT가 충분히 존재하지 못하는 경우에는 O-acetylation을 거쳐서 acetoxy arylamine 유도체가 생성되며, 이것은 스스로 분해되어 반응성이 매우 강한 최종 발암물질을 형성하게 된다(Hein 등, 1992). 개인별 acetylation 속도는 크게 rapid, intermediate, 그리고 slow acetylator로 분류되며, 이러한 acetylation 속도의 차이는 간의 NAT 활성에 의하여 결정된다(出口, 1992).

N-acetylation 속도가 느린 사람은 다량의 발암물질이 소변을 통하여 그대로 배설되게 되어 방광암의 발생위험이 증가할 것으로 예상되므로, 직업적으로 arylamine에 폭로되는 것이 방광암 발생과 밀접한 관

련이 있다고 알려져 있다(Vineis 등, 1992; Kloth 등, 1994). 또 방광암 환자-대조군 연구에서 방광암 환자군에서 slow acetylator의 비율이 유의하게 높은 것으로 나타나, slow acetylator는 방광암의 위험인자로 인식되고 있다(Risch 등, 1995). 그러나 이러한 주장과는 달리, slow acetylator와 방광암 발생간에는 유의한 관련성이 없었을 뿐 아니라 심지어 보호 효과가 있었다는 보고도 있다(Hayes 등, 1993). 그러므로 NAT2 다형성이 방광암 발생에 영향을 미치는가에 대해서는 좀 더 많은 연구가 필요한 것으로 생각된다.

한편 glutathione S-transferase(이하 GST)는 환원된 glutathione(이하 GSH)을 다양한 전자친화성 물질과 결합시켜서, 외부로부터 유입된 독성물질을 배설하는 동종효소들의 집단을 의미하는 것으로, 여러 조직에서 독성물질의 해독작용에 중요한 역할을 한다(Groppi 등, 1991). GST 중 mu형(이하 GSTM1)은 각종 발암물질의 대사산물에 GSH를 결합시켜서 GSH 결합체를 형성함으로써 그 독성을 저하시킨다. 방광암을 유발하는 azo dye도 GSTM1에 의하여 대사되므로, GSTM1의 활성이 저하된 경우는 발암물질에 의한 암발생 가능성이 증가할 것으로 생각된다. GSTM1의 발현은 사람마다 차이가 있는데, 동서양을 막론하고 약 50% 정도에서 전혀 검출되지 않는다(Harada 등, 1987; Board, 1991; 出口, 1992). GSTM1 유전자는 체세포 우성 (autosomal dominant)으로 유전되며(Seidegard 등, 1985), 전체인구의 반에서 이 효소의 유전자가 결손되어 있기 때문이다. GSTM1이 결손되어 있는 경우에는 반응성이 강한 대사산물이 GSH와 결합하지 않은 상태로 소변을 통해 배설되면서 요로계를 포함한 전신에 암발생 작용을 나타낼 것으로 추측된다.

우리나라의 GSTT1 유전자 결손률은 백인이나 흑인에 비하여 대단히 높다(Nelson 등, 1995). GST의 동종효소인 이 유전자가 결손된 경우는 자매염색분체 교환빈도(sister chromatid exchange, SCE)가 증가하며, 골수이형증후군(myelodysplastic syndrome)의 위험도가 상승한다고 보고된 바 있다(Chen 등, 1996). GSTT1이 기능적으로 GSTM1과 밀접한 관련성이 있으며,

GSTM1 유전자 결손이 방광암과 관련되어 있으므로, GSTT1 유전자 결손도 방광암의 위험인자일 가능성이 높다.

이 세 효소 중 어느 하나만으로 방광암의 발생원인을 모두 설명하기는 매우 어려우며, 같은 물질의 대사 과정에도 여러 가지 효소가 복합적으로 작용하므로 이들 효소의 상호작용을 꼭 고려해야만 한다. 따라서 방광암의 원인으로서, 흡연, 염료 등 지금까지 알려진 방광암의 원인과 더불어, NAT2와 GSTM1, 그리고 GSTT1의 다형성도 동시에 고려하는 것이 합당하다.

따라서 본 연구는 NAT2 유전자와 GSTM1 유전자, 그리고 GSTT1 유전자의 다형성이 각각 방광암 발생에 어떤 효과를 나타내는가를 평가하기 위하여 시행하였다.

II. 연구대상 및 방법

1. 연구 대상

본 연구는 환자-대조군 연구로서 환자군은 충북대학교 병원에서 병리조직학적으로 방광암이 확인된 환자 67명이며, 대조군은 환자군과 성고 연령을 짝지은, 동일병원에 입원한 암이 아닌 환자 67명이다.

2. 설문 조사

모든 대상자들에 대하여 면접조사요원이 직접설문 조사를 시행하였다. 설문조사에는 인적사항 및 인구학적 요인, 흡연력, 직업력, 식이 습관, 그리고 기타 관련 요인이 포함되었다.

3. NAT 및 GSTM1 유전자 다형성 분석

유전자 분석을 위하여 환자군과 대조군의 혈액을 헤파린 튜브에 5ml 정도 채취하였다. 이 혈액을 Histo-paque^R(Sigma Company)위에 중침시켜 1500 rpm으로 20분간 원심분리하고 백혈구층(buffy coat)을 분리

하여 저장하였다. 냉장 보관한 전혈에 proteinase K를 가하여 단백질을 소화시키고 phenol-chloroform-isoamyl alcohol(25:24:1)을 이용하여 DNA를 추출한 다음 RNase를 가하여 RNA를 분해하였다.

두 쌍의 서로 다른 시발체(primer)를 사용하는 PCR (polymerase chain reaction) 방법을 써서 NAT2 다형성을 확인하였다. 먼저 정해진 한 쌍의 시발체를 이용하여 NAT2 유전자의 일부분(NAT2A)을 증폭시켰다. Genomic DNA 500ng을 원형(template)으로 사용하며, 최종 반응액 100 μ l에는 4가지 dNTP 200 μ M씩, 3.0mM MgCl₂, 1X PCR reaction buffer, 그리고 Taq polymerase 2.5 unit 등을 첨가하였다. 그 위에 광물유(mineral oil)를 증첩시키고 DNA Thermal Cycler(Perkin-Elmer Cetus)를 이용하여 94 $^{\circ}$ C에서 1분 30초, 57 $^{\circ}$ C에서 1분 30초, 74 $^{\circ}$ C에서 1분의 온도 주기를 30회 반복하였다. 증폭된 산물 10 μ l에 물 7 μ l, BamHI 1 μ l, 그리고 10X 완충액 2 μ l를 가하고 37 $^{\circ}$ C에서 6시간 이상 반응시킨 다음, 2% agarose gel 상에서 100V로 30분 정도 전개하여 ethidium bromide로 염색한 후 자외선 아래에서 관찰하였다. 393bp의 band만 보이면 AA형, 393bp와 279bp band가 동시에 보이면 AB형, 그리고 279bp band만 보이면 BB형으로 분류하였다(그림 1).

다른 한 쌍의 NAT2용 시발체를 이용하여 별도의 부위(NAT2B)를 PCR로 증폭하였다. 최종 반응액의 농도와 온도조건은 전과 동일하다. 증폭된 산물 15 μ l에 물 2 μ l, Taq I 1 μ l, 그리고 10X 완충액 2 μ l를 가하고 65 $^{\circ}$ C에서 6시간 이상 반응시켜서, 2% agarose gel 상에서 전기영동한 다음 ethidium bromide로 염색한 후 자외선 아래에서 관찰하였다. 63bp와 53bp band만 보이면 XX형, 117bp, 64bp, 53bp band가 동시에 보이면 XY형, 117bp의 band만 보이면 YY형으로 분류하였다(그림 2).

두 번에 걸친 NAT2 유전자의 PCR-RFLP 결과를 종합하여 다음과 같이 NAT2 활성도를 표 1과 같이 판정하였다(Deguchi, 1992).

GSTM1과 GSTT1 유전자형 분석에는 Chen 등(1996)

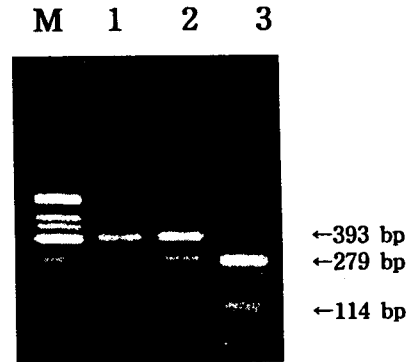


그림 1. NAT2A PCR 산물의 BamHI RFLP 전기영동 소견. M은 molecular size marker (Φ x174/Hinf I), 1은 AA형, 2는 AB형, 그리고 3은 BB형이다.

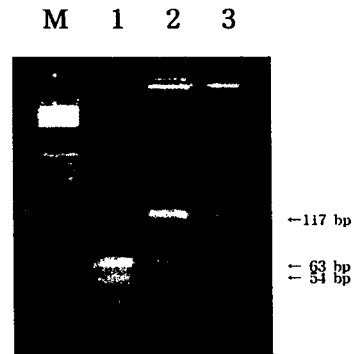


그림 2. NAT2B PCR 산물의 Taq I RFLP 전기영동 소견. M은 molecular size marker (Φ x174/Hinf I), 1은 XX형, 2는 XY형, 그리고 3은 YY형이다.

의 multiplex PCR 방법을 이용하였다. 약술하면 다음과 같다. 유전자 결손 이외의 원인으로 인하여 GSTM1과 GSTT1 유전자의 증폭이 일어나지 않은 것을 확인하기 위하여 β -globin 유전자에 대한 시발체도 동시에 반응액에 가하여 증폭시키고 β -globin 유전자가 증폭된 경우에 한해서 유전자 결손 여부를 판정하였다. 시발체는 GSTM1에 대한 5'-GAAGCTCCCTG

표 1. NAT2A와 NAT2B 전기영동 결과에 따른 유전자형 판정 및 NAT2 활성도 판정

NAT2A	NAT2B	대립유전자형	NAT2 활성도
AA	XX	2, 2	slow acetylator
AA	XY	-	-
AA	YY	-	-
AB	XX	1, 2	intermediate acetylator
AB	XY	2, 3	slow acetylator
AB	YY	-	-
BB	XX	1, 1	rapid acetylator
BB	XY	1, 3	intermediate acetylator
BB	YY	3, 3	slow acetylator

AAAAGCTAAAGC-3' 과 5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3', GSTT1에 대한 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3' 과 5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3', β -globin 유전자에 대한 5'-CCACCTCATCCACGTTCAAC-3' 과 5'-GAAGAGCCAAGGACAGGT AC-3' 등, 여섯 가지를 동시에 사용하였다. PCR 반응은 DNA 500 ng을 원형으로 사용하며, 최종 반응액 100 μ l에는 4가지 dNTP 200 μ M씩, 3.0mM MgCl₂, 1X PCR 반응 완충액, 그리고 Taq polymerase 1.25 unit 등을 첨가하였다. 그 위에 광물유를 중첩시키고 DNA Thermal Cycler(Perkin-Elmer Cetus)를 이용하여 94 $^{\circ}$ C에서 1분, 62 $^{\circ}$ C에서 1분, 그리고 74 $^{\circ}$ C에서 1분의 온도 주기를 30회 반복하였다. 2% 아가로스 젤에서 전기영동한 다음, 210bp 크기의 band가 존재하는가를 확인함으로써 GSTM1의 결손여부를, 그리고 473bp 크기의 band가 존재하는가를 확인함으로써 GSTT1의 결손여부를 판정하였다(그림 3).

4. 자료 분석

이상에서 얻어진 설문조사 결과, NAT2 유전자 다형성 유형, 그리고 GSTM1 존재여부 등에 대한 정보를 컴퓨터 화일화하여 입력하고 PC-SAS 패키지를 이용하여 통계분석하였다. 조사된 폭로인자 각각에 대하여 단변수 분석을 우선 시행하였다. NAT2와

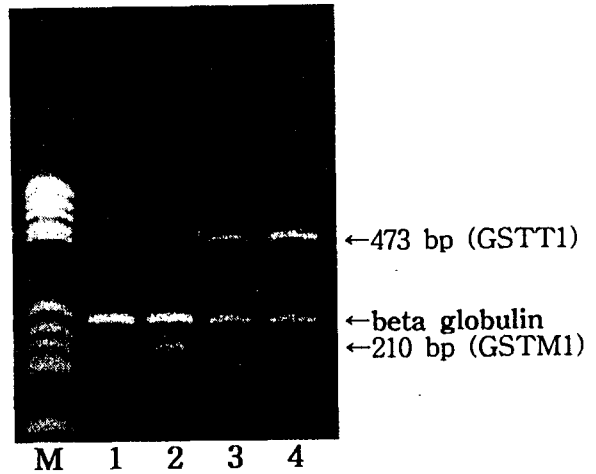


그림 3. GSTT1과 GSTM1 PCR 산물의 전기 영동 소견. M은 molecular size marker(Φ X174/HaeIII), lane 1은 GSTT1(-)/GSTM1(-)/ β -globin(+), lane 2는 GSTT1(-)/GSTM1(+)/ β -globin(+), lane 3은 GSTT1(+)/GSTM1(-)/ β -globin(+), 그리고 lane 4는 GSTT1(+)/GSTM1(+)/ β -globin(+).

GSTM1, 그리고 GSTT1 유전자 다형성 유형 각각에 대하여, 단변수 분석에서 환자군과 대조군 사이에 유의한 차이를 보였던 인자들과 성별, 연령 등의 기본 인자를 포함한 다변량 분석을 시행하였으며, 최종적으로는 두 유전자의 다형성 유형이 모두 포함된 다변량 분석을 실시하였다.

III. 결 과

환자군과 대조군의 평균연령 \pm 표준편차는 각각 63.5 \pm 14.0세와 64.2 \pm 11.1세로 나타났다. 환자군과 대조군의 생활습관상의 특성을 비교한 결과는 표 2 및 표 3과 같다.

연령, 신장, 체중, 흡연 및 음주 습관, 피임수술 여부, 수혈 여부 등에서 환자군과 대조군 사이에 유의한

표 2. 환자군과 대조군의 인적사항 및 생활습관의 특성비교

	환자군 (N = 67)		대조군 (N = 67)		P-value
	평균	표준편차	평균	표준편차	
연령 (세)	63.5	14.0	64.2	11.1	0.738
신장 (cm)	165.2	7.0	164.5	7.8	0.601
체중 (Kg)	53.4	19.1	54.0	22.0	0.864
하루 흡연량 (개피)	17.8	7.8	18.4	7.7	0.728
누적 흡연량 (packyear)	28.2	20.0	22.2	20.4	0.105

표 3. 각종 폭로 인자의 방광암에 대한 대응비 및 95% 신뢰구간

	환자군		대조군		OR	95% 신뢰구간	χ^2	trend
	수	%	수	%				
성별								
남	54	54	54	54	1.00	-		
여	13	13	13	13	1.00	0.43-2.35		
음주								
비음주	25	30	30	30	1.00	-	1.41	
금주	15	17	17	17	1.06	0.44-2.54	(NS)	
음주	27	20	20	20	1.62	0.74-3.55		
흡연								
비흡연	14	22	22	22	1.00	-		
흡연	53	45	45	45	1.85	0.85-4.03		
수혈 과거력								
없다	58	58	58	58	1.00	-		
있다	9	9	9	9	1.00	0.37-2.70		
피임수술 과거력								
없다	62	63	63	63	1.00	-		
있다	5	4	4	4	1.27	0.33-4.95		
고위험 직업력								
없다	66	67	67	67	1.00	-		
있다	1	0	0	0	0.00	0.00-		
NAT								
slow	2	5	5	5	1.00	-	1.18	
intermediate	26	27	27	27	2.41	0.43-13.51	(NS)	
rapid	39	34	34	34	2.87	0.52-15.63		
GSTM1								
비결손	21	34	34	34	1.00	-		
결손	46	33	33	33	2.26	1.12-4.56		
GSTT1								
비결손	49	38	38	38	1.00	-		
결손	18	29	29	29	0.48	0.23-0.99		

표 4. 다변량 로지스틱 분석결과

변수명	β	S.E.(β)	Wald chi-square	exp(β)	95% CI
연령(10세)	-0.0380	0.1490	0.0633	0.96	0.72-1.29
NAT 활성					
Intermediate	0.6753	0.9468	0.5087	1.96	0.31-12.57
Rapid	0.7583	0.9416	0.6486	2.13	0.34-13.52
GSTM1 결손	0.9397	0.3767	6.2239	2.56	1.22-5.36
GSTT1 결손	-0.6430	0.3948	2.6523	0.53	0.24-1.14
흡연 여부	0.7560	0.4214	3.2190	2.13	0.93-4.86

S.E. : 표준오차

표 5. 환자군과 대조군의 NAT 대립유전자 분포

대립유전자	환자군		대조군	
	수	%	수	%
1	104	77.6	96	72.7
2	11	8.2	16	12.1
3	19	14.2	20	15.2
계	134	100	132	100

$\chi^2=1.26$, P-value>0.05

차이를 보이는 것은 없었다. 염색 공장, 색소 공장, 고무 공장, 그리고 가죽 공장등 방광암의 위험도가 증가할 가능성이 있는 직업을 가졌던 사람은 환자군에 1명만이 있어서 통계 분석대상에서 제외하였다.

NAT2 활성은 방광암 위험도에 유의한 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. GSTM1의 결손은 환자군과 대조군 사이에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났는데, 대응비(odds ratio, OR)는 2.26이었다. 반면, GSTT1 결손은 방광암에 대하여 유의한 보호효과를 보였다(OR: 0.48, 95% CI: 0.23-0.99). 기본적인 인적 사항과, 방광암의 위험인자로서 꼭 고려해야할 흡연 습관, 그리고 NAT2와 GSTM1, 그리고 GSTT1 유전자 다형성 유형을 포함시킨 다변량 로지스틱 분석을 시행하였으며 그 결과는 표 4와 같다. 다변량 로지스틱 분석에서 GSTM1 결손은 유의한 위험인자로 나타났으나, NAT 활성과 흡연 여부는 유의하지 않은 것으로 나타났다.

환자군과 대조군의 NAT 대립유전자의 분포는 표 5와 같다. 환자군과 대조군의 NAT 대립유전자 분포양상은 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

IV. 고 찰

NAT 유전자는 두 가지가 있는데, 첫 번째 것은 간에 존재하면서 p-aminobenzoic acid와 anisidine의 반응을 촉매하는 NAT로서 사람간에 그 활성의 차이가 거의 없어서 단형성(monomorphic) NAT, 혹은 NAT1이라 하고, 두 번째 NAT는 단형성 NAT와 거의 같은 크기의 효소를 만들어내지만 사람에 따라 효소활성의 차이가 커서 다형성(polymorphic) NAT, 혹은 NAT2라고 한다. 그러나 최근 NAT1의 다형성이 NAT 활성과 관련이 있다는 사실이 밝혀지면서, 각종 질병과의 관련성에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

본 연구에서는 NAT2 활성과 방광암 위험도는 유의한 관련이 없는 것으로 나타났다. 이러한 연구 결과는 slow acetylator가 rapid acetylator에 비하여 방광암 발생가능성이 39% 이상 높으며(Evans, 1984), benzidine에 의한 방광암의 발생률도 증가하는 경향을 보이고(Cartwright 등, 1982), 환경적으로 방광암 발생의 위험도가 비교적 낮은 군에서도 방광암이 잘 발생한다(Mommsen 등, 1985)는 기존의 연구 결과와 일치하지 않는 것이다. 그러나 Hayes 등(1993)과 Vineis 등(1995)은 NAT2 효소 활성이 높은 사람에서 방광암이 잘 생긴다고 보고하고 있다. 따라서 NAT2 활성과 방광암 발생 사이의 관련성과 그 기전에 대해서는 좀 더 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

환자군과 대조군의 대립유전자 보유율을 비교한 결과, 양군 사이에 유의한 차이를 발견할 수 없었다. 이러한 현상은 NAT2 활성이 방광암의 위험도와 유의한 관련성이 없었다는 본 연구의 결과와 일치하는 것이다.

본 연구의 결과, 대조군의 NAT2 대립유전자의 점유율은 대립유전자 1, 2, 3에 대하여 각각 72.7%, 12.1%, 그리고 15.2%로 나타났다. 이러한 수치는 Deg-

uchi(1992)가 발표한 일본인의 대립유전자 1, 2, 3의 점유율인 70%, 8%, 21%에 비하여 대립유전자 3의 점유율은 낮으나 대립유전자 2의 점유율은 높은 편이다. 대립유전자 4는 일본인의 1% 이하에서만 관찰되므로 우리나라 사람에서의 점유율도 매우 낮을 것으로 판단된다. Caucasian에서는 대립유전자 1, 2, 3, 4의 점유율이 각각 25.8%, 1.6%, 27.4%, 45.2%로서(Hickman 등, 1991), 대립유전자 3과 4의 점유율이 본 연구의 대조군에 비하여 현저히 높다. 특히 대립유전자 4를 갖는 경우에는 대부분 아세틸화 속도가 가장 낮은 범위에 속하므로, 우리나라 사람들의 평균 아세틸화 속도는, 일본인과 비슷하며, 서양인에 비하여 높다고 할 수 있다. 한편, 우리나라에서 방광암은 인구 10만당 남자가 연간 8.9명, 여자가 연간 1.5명 발생하는 것으로 나타났다(Kim 등, 1995). 이에 비하여 Osaka의 일본인들은 각각 남자 8.2명, 여자 2.0명으로 우리나라와 비슷하였다, 그러나 미국 Connecticut의 백인은 남자가 26.1명, 여자가 6.9명으로 우리나라나 일본 사람들에 비하여 훨씬 높은 방광암 발생률을 나타냈다(Parkin 등, 1992).

NAT2 유전자형의 진단에는 최소한 서로 다른 세 가지의 제한효소로 처리하여야 완벽한 유전자형의 확인이 가능하지만, 유전자 4는 그 빈도가 매우 낮으며 더구나 두 대립유전자가 모두 유전자 4인 경우는 거의 없기 때문에 보통의 경우에는, 본 연구에서와 같이, 두 번 PCR로 일정부위를 증폭하고 두가지 다른 제한효소로 처리하여 절단부위가 존재하는지의 여부를 확인하는 방법으로 유전자형을 진단하고 있다. 본 연구에서 사용한 유전자형 확인방법은 표현형 확인 방법에 비하여 대상자에게 주는 불편이 적을 뿐 아니라, 간편하고 시간과 노력이 적게 들기 때문에 역학적 연구에 적합하다.

GSTM1은 각종 발암물질 대사산물의 발암성이나 변이원성을 저하시키는 작용을 하므로, GSTM1이 결손된 경우에는 체내 DNA-adduct 양이 증가하게 된다(Ketterer 등, 1992). GSTM1이 존재하지 않는 흡연자의 소변은 그 변이원성이, GSTM1 유전자를 갖고 있

는 사람의 소변에 비하여 매우 높다(Hiroven 등, 1994). GSTM1이 결손된 사람은 1-chloro-2,4-dinitrobenzene에 대한 활성화도도 낮은 것으로 나타났는데 이는 GSTM1이 없는 사람은 GST 전체의 활성화도도 저하됨을 의미한다(Nakajima 등, 1995). GSTM1 유전자 결손이 방광암 발생 위험도를 높인다는 본 연구의 결과는 지금까지의 연구 결과와 일치하는 것이다. 한편 OR은 본 연구의 값이 2.26으로서, 일본인을 대상으로 한 연구의 결과(OR=2.15; Katoh 등, 1995)와 비슷한 것으로 나타났다. 다른 요인들의 영향을 보정한 경우의 GSTM1 결손의 OR은 2.56으로 오히려 증가하는 경향을 보여, GSTM1의 결손이 방광암 발생에 미치는 영향에 교란변수에 의한 비뚤림 작용이 중요하게 작용하지 않았음을 시사하고 있다. 따라서 GSTM1 결손은 방광암의 위험인자라고 할 수 있다. GST mu의 표현형을 조사하기 위하여 본 연구에서 사용된, PCR을 이용한 GSTM1 유전자형 검사법은 특이 기질인 trans-stilbene oxide를 이용하여 조사한 GSTM1의 표현형과 잘 일치하며(Comstock 등, 1990; Zhong 등, 1991), 노력, 시간, 비용이 적게 소요될 뿐 아니라, 한꺼번에 여러 개의 시료를 동시에 처리할 수 있으므로 다수의 시료를 처리하는데 적합하다.

한편, GSTT1 결손은 방광암에 대한 보호효과가 있는 것으로 나타났는데, 이는 GSTT1 결손이 혈액 종양에 대한 위험인자라는 Chen 등(1996)의 연구와는 정반대의 결과이다. 본 연구의 대조군에서의 GSTT1 결손률은 43.3%로서 Nelson 등(1995)이 보고한 한국인의 결손률 60.2%, 그리고 중국인의 결손률 64.4%에 비해서는 낮은 것이지만, 이들이 보고한 백인(15.7-23.7%), 흑인(21.8%), 그리고 멕시코인의 결손률(9.7%)이나, To-Figueras 등(1997)이 보고한 스페인인의 결손률(19.2%)에 비해서는 현저히 높은 수준이다. 한편 일본인과 중국인의 GSTT1 결손률도 높은 것으로 보고되었는데, 한국(인구 10만당 연간 남자 8.9명, 여자 1.5명), 일본(Osaka 인구 10만당 연간 남자 8.2명, 여자 2.0명), 그리고 중국(Shanghai 인구 10만당 연간 남자 6.8명, 여자 1.8명)의 방광암 발생률은 미국 Connectic-

ut의 백인(인구 10만당 연간 남자 26.1명, 여자 6.9명)과 흑인(인구 10만당 연간 남자 11.2명, 여자 4.2명), 그리고 스페인인(Granada 지방 인구 10만당 연간 남자 21.2명, 여자 3.0명)들의 방광암 발생률에 비하여 현저히 낮다. 이러한 현상은 GSTT1 유전자 결손이 방광암 발생에 대하여 보호효과가 있다는 본 연구의 결과와 합치되는 것이다. 그러나 본 연구만으로는 GSTT1 결손의 보호작용을 설명할 수 있는 생물학적 기전에 대해서는 아무런 단서도 제공할 수 없었다.

(방광암의 위험인자인 것으로 알려진 흡연이 본 연구에서는 유의한 위험인자가 아닌 것으로 나타나서 기존의 연구 결과와 차이를 보이고 있다. 이러한 현상은 본 연구가 수행된 충북지역에 거주하는 성인 남성이 대부분 흡연하고 있어서 환자군과 대조군의 흡연율이 매우 높을 뿐 아니라, 환자군 중에서 상당수는 방광암 진단을 받은 후에 금연을 하였을 가능성이 높기 때문이다. 본 연구의 설문조사에서는 면접 당시의 흡연 습관과 과거의 흡연 습관에 대하여 질문하였는데, 일반적으로 방광암은 조기에 발견되고 완치율이 높기 때문에, 방광암 환자의 생존 및 병원 추적 기간이 길어서, 방광암 진단 후 담배를 끊은 다음 오랜 시간이 경과하여 과거의 흡연습관에 대하여 잘못된 기억을 하고 있다가 이를 알려주는 선택적 기억(selective recall)의 효과도 있으리라고 사료된다.

NAT2와 GSTM1, 그리고 GSTT1 유전자 다형성 이외의, 생활습관과 관련된 여러 가지 요인은 방광암 발생과 무관한 것으로 나타났는데, 이는 현재 우리나라의 방광암 발생의 대부분이 환경적인 요인보다는 개인의 감수성에 의하여 좌우된다는 것을 시사하는 것이다.

V. 요약

1996년 3월부터 1996년 12월까지 충북대학교병원 비뇨기과에 입원하여 치료를 받은 방광암 환자 67명과 암 아닌 다른 질환을 가진 대조군 67명을 대상으로 흡연, 음주, 직업력 등을 포함한 생활 습관과 NAT2와

GSTM1, 그리고 GSTT1 유전자 다형성 양상을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. NAT2 다형성 분포는, 환자군이 slow, intermediate, rapid acetylator가 각각 3.0%, 38.8%, 58.2%, 그리고 대조군이 7.6%, 40.9%, 51.5%였으며, NAT2의 활성과 방광암 위험도 사이의 관련성은 유의하지 않았다($\chi^2_{trend}=1.18, P\text{-value}>0.05$).

2. GSTM1 결손은 환자군의 68.7%, 대조군의 49.3%에서 확인되었으며, OR(95% 신뢰구간)이 2.23(1.12-4.56)으로, 방광암 발생의 위험인자로 나타났다.

3. GSTT1은 환자군의 26.9%, 그리고 대조군의 43.3%에서 결손이 있는 것으로 나타나서, GSTT1 결손은 방광암에 대하여 보호효과가 있는 것으로 관찰되었다 (OR: 0.48, 95% 신뢰구간: 0.23-0.99).

4. 흡연 여부는 방광암의 발생에 유의한 영향을 미치지 않는 것으로 나타났는데(OR=1.85, 95%CI: 0.85-4.03), 이는 환자군과 대조군의 흡연률이 모두 높기 때문으로 판단된다.

5. 그 외, 음주력, 직업력, 수혈 여부, 그리고 피임시술의 과거력 등의 요인들은 방광암 발생과 유의한 관련성이 없는 것으로 나타났다.

참고문헌

- 出口武夫. 芳香族アミン薬物の代謝に關與するアセチル轉移酵素の分子藥理學. 日本臨床 1992; 50: 877-886.
- Board EG. Biochemical genetics of glutathione S-transferase in man. Am J Human Genet 1991; 33: 36-43
- Cartwright RA, Glasham RW, Rogers HJ, Ahmed RA, Hall DB, Higgins E, Kahn MA. The role of N-acetyltransferase phenotype in bladder carcinogenesis: a pharmaco-genetic epidemiological approach to bladder cancer. Lancet 1982; ii: 842-846
- Chen H, Sandler DP, Taylor JA, Shore DL, Liu E, Bloomfield CD, Bell DA. Increased risk for myelodysplastic syndromes in individuals with glutathione transferase theta 1 (GSTT1) gene defect. Lancet 1996; 347: 295-297
- Comstock KE, Sanderson BJS, Claflin G, Henner WD. GST1 gene deletion determined by polymerase chain reaction. Nucleic Acids Res 1990; 18: 3670
- Deguchi T. Sequence and expression of alleles of polymorphic arylamine N-acetyltransferase of human liver. J Biol Chem 1992; 267: 18140-18147
- Evans DA. Survey of the human acetylator polymorphism in spontaneous disorder. J Med Genet 1984; 21: 243-253
- Groppi A, Coutelle C, Fleury B, Iron A, Begueret J, Couzigou P. Glutathione S-transferase class in French alcoholic cirrhotic patients. Hum Genet 1991; 87: 628-630
- Harada S, Abai M, Tanak N, Agarrwal D, Goedde HW. Liver glutathione S-transferase polymorphism in Japanese and its pharmacogenic importance. Human Genet 1987; 75: 322-325
- Hayes RB, Bi W, Rothman N, Broly F, Caporaso N, Feng P, You X, Yin S, Woosley RL, Meyer UA. N-acetylation phenotype and genotype and risk of bladder cancer in benzidine-exposed workers. Carcinogenesis 1993; 14: 675-678
- Hein DW, Rustan TD, Doll MA, Bucher KD, Ferguson RJ, Feng Y, Furman EJ, Gray K. Acetyltransferase and susceptibility to chemicals. Toxicol Lett 1992; 64-65 Spec No: 123-130
- Hickman D, Sim E. N-Acetyltransferase polymorphism comparison of phenotype and genotype in humans. Biochem Toxicol 1991; 1007-1014
- Hiroven A, Nylund L, Kociba P, Husgafvel-Pursiainen K, Vainio H. Modulation of urinary mutagenicity by genetically determined carcinogen metabolism in smokers. Carcinogenesis 1994; 15: 813-815
- Katoh T, Inatomi H, Nagaoka A, Sugita A. Cytochrome P4501A1 gene polymorphism and homozygous deletion of the glutathione S-transferase M1 gene in urothelial cancer patient. Carcinogenesis 1995; 16: 655-657
- Ketterer B, Harris JM, Talaska G, Meyer DJ, Pemble SE, Taylor JB, Lang NP, Kadlubar FF. The human glutathione S-transferase supergene family, its polymorphism, and its effects on susceptibility to lung cancer. Environ Health Perspect 1992; 98: 87-94

- Kim J-P, Park I-S, Ahn Y-O, Shin M-H, Ahn D-H, Kang T-W, Ko U-R, Ku P-S, Kim K-Y, Kim K-H, Kim N-K, Kim D-J, Kim D-H, Kim B-S, Kim S-H, Park C-T, Min J-S, Park T-K, Woo B-H, Yoo H, Lee S-W, Lee S-J, Cho K-S, Joo H-Z, Ham E-K. 1991 Cancer incidence in Seoul, Korea: Results of the implementation study of the Seoul Cancer Registry. *J Kor Med Sci* 1995; 10: 74-84
- Kloth MT, Gee RL, Messing EM, Swaminathan S. Expression of N-acetyltransferase in cultured human urothelial cells. *Carcinogenesis* 1994; 15: 2781-2787
- Mommsen S, Barford NM, Aagaard J. N-Acetyltransferase phenotype in urinary bladder carcinogenesis of a low risk population. *Carcinogenesis* 1985; 6: 199-201
- Nakajima T, Elovaara E, Anttila S, Hirvonen A, Camus AM, Hayes JD, Ketterer B, Vainio V. Expression and polymorphism of glutathione S-transferase in human lungs: risk factors in smoking-related lung cancer. *Carcinogenesis* 1995; 16: 707-711
- Nelson HH, Wiencke JK, Christiani DC, Cheng TJ, Zuo ZF, Schwartz BS, Lee BK, Spitz MR, Wang M, Xu X, Kelsey KT. Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis* 1995; 16: 1243-1245
- Parkin DM, Muir CS, Whelan SL, Gao YT, Ferlay J, Powell J. Cancer incidence in five continents, volume VI. International Agency for Research on Cancer, 1992, pp. 976-977
- Risch A, Wallace DM, Bathers S, Sim E. Slow N-acetylation genotype is a susceptibility factor in occupational and smoking related bladder cancer. *Hum Mol Genet* 1995; 4: 231-236
- Seidegard J, Pero RW. The hereditary transmission of high glutathione transferase activity towards trans-stilbene oxide in human mononuclear leukocytes. *Hum Genet* 1985; 69: 66-68
- To-Figueras J, Gene M, Gomez-Catalan J, Galan MC, Fuentes M, Ramon JM, Rodamilans M, Huguet E, Corbella J. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) polymorphisms and lung cancer risk among Northwestern Mediterraneans. *Carcinogenesis* 1987; 18: 1529-1533
- Tsuchida S, Sato K. Glutathione transferase and cancer. *Critical Rev Biochem Mol Biol* 1992; 27: 337-384
- Vineis P, Ronco G. Interindividual variation in carcinogen metabolism and bladder cancer risk. *Environ Health Perspec* 1992; 98: 95-99
- Vineis P, Schulte PA. Scientific and ethical aspects of genetic screening of workers for cancer risk: the case of the N-acetyltransferase phenotype. *J Clin Epidemiol* 1995; 48: 189-197
- Zhong S, Howie AF, Ketterer B, Taylor J, Hayes JD, Beckett GJ, Wathen CG, Wolf CR, Spurr NK. Glutathione S-transferase mu locus: use of genotyping and phenotyping assay to assess association with lung cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 1991; 12: 1533-1537