

후생유전학 (Epigenetics)과 DNA methylation의 이해

오정환 · 권용대 · 윤병욱 · 최병준
경희대학교 치의학전문대학원 구강악안면외과학교실

Abstract

UNDERSTANDING OF EPIGENETICS AND DNA METHYLATION

Jung-Hwan Oh, Young-Dae Kwon, Byung-Wook Yoon, Byung-Jun Choi
Dept. of Oral & Maxillofacial Surgery, Kyung-Hee University Dental School

Epigenetic is usually referring to heritable traits that do not involve changes to the underlying DNA sequence. DNA methylation is known to serve as cellular memory, and is one of the most important mechanism of epigenetic.

DNA methylation is a covalent modification in which the target molecules for methylation in mammalian DNA are cytosine bases in CpG dinucleotides. The 5' position of cytosine is methylated in a reaction catalyzed by DNA methyltransferases; DNMT1, DNMT3a, and DNMT3b.

There are two different regions in the context of DNA methylation: CpG poor regions and CpG islands. The intergenic and the intronic region is considered to be CpG poor, and CpG islands are discrete CpG-rich regions which are often found in promoter regions. Normally, CpG poor regions are usually methylated whereas CpG islands are generally hypomethylated.

DNA methylation is involved in various biological processes such as tissue-specific gene expression, genomic imprinting, and X chromosome inactivation. In general, cancer cells are characterized by global genomic hypomethylation and focal hypermethylation of CpG islands, which are generally unmethylated in normal cells. Gene silencing by CpG hypermethylation at the promoters of tumor suppressor genes is probably the most common mechanism of tumor suppressor inactivation in cancer.

Key words: Epigenetic, DNA methylation, CpG islands, Gene silencing

I. 서론

인체를 이루고 있는 다양한 조직 및 장기의 세포는 동일한 유전자 정보를 가지고 있지만 그 기능과 모습에서 큰 차이가 있다. 이는 각 조직과 장기의 세포에서 특정한 유전자들만 발현되기 때문이다. 각 세포 유형에서 특이적인 유전자 발현은 세포가 분화하면서 확립되는데 이것은 조직 특이적인 transcription factor 작용, DNA 메틸화 (DNA methylation), histone의 변경, 세포외 시그널 등이 복합적으로 작용하여 일어난다. 세포의 분화는 DNA 염기서열의 변화 없이 이루어지지만 세포분화를 통해 획득한 형질적

인 특성은 세포분열을 통해 자손세포에게 전달된다. 이와 같이 유전자 염기서열과 무관하게 획득한 특정 형질이 자손에게 전달되는 것을 후생유전이라고 한다. 후생유전학(epigenetics)이란 DNA 염기서열의 변화, 즉 유전자 변이 없이 일어난 유전자 기능 변화를 연구하는 학문이다¹⁾.

이러한 후생유전은 발생과 분화, X-염색체의 불활성화, 유전자 각인 (gene imprinting)에 중요한 역할을 한다. 후생유전에는 DNA 메틸화, histone modification(methylation과 deacetylation)에 의한 유전자 발현 억제 등이 포함된다. DNA 메틸화는 대표적인 후생유전적 변화로서 유전자 코드의 변화 없이 유전자의 기능을 직접적으로 변경시

키고, 자손세포에 전달될 수 있으며 유전자의 발현억제 및 종양 발생과 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 이 논문에서는 DNA 메틸화를 중심으로 정의, 메틸화의 의미, 유전자 억제 기전, 암 생성에서의 역할 등을 알아보려고 한다.

II. 본 론

1. DNA 메틸화(DNA Methylation)란?

유기화학에서 메틸화란 CH₃ 그룹이 첨가되는 알킬화 과정(alkylation process)이다. 예를 들어, carboxylate는 methyl ester를 생성하고 산소 부위에서 메틸화되고, alkoxide salt RO⁻는 ether, ROCH₃로 메틸화되고, 또는 ketone은 새로운 ketone을 형성하고 탄소부위에서 메틸화된다(Fig. 1).

인간 DNA는 기본적으로 Adenine(A), Guanine(G), Cytosine(C), Thymine(T) 등 4개의 염기로 구성되어 있는데 1948년 처음으로 다섯 번째 염기인 5-methylcytosine(m⁵C)이 발견되었다²⁾. 진핵생물에서 DNA 메틸화는 DNA 합성 후에 일어나며, guanine 앞의 cytosine pyrimidine ring의 5번 탄소에 S-adenosyl-methionine에 의하여 제공되는 메틸그룹(methyl group)의 첨가가 DNA methyltransferases(DMNTs)에 의하여 촉매되는 반응이다³⁾(Fig. 2). 인간에서는 약 1%의 DNA 그리고 DNA에 존재하는 모든 CpGs의 60-70% 정도가 메틸화 되어 있다. CG dinucleotide는 CG basepair와 구분하기 위하여 CpG로 표기하며, 이는 중간 p는 phosphodiester bond를 의미한다. 인트론(intron), 엑손(exon), satellite DNAs, transposon, 그리고 비유전자 DNA에 위치한 CpG들은 거의 모두 메틸화되어 있다. 성인 체세포에서는 CpG dinucleotide에 발생하고, embryonic stem cell에서는 non-CpG 메틸화가 우세한 것으로 알려져 있다. 식물에서의 cytosine의 메틸화는 대칭적(CpG나 CpNpG) 또는 비대칭적(CpNpNp)으로 존재할 수 있다. N는 어떤 염기도 가능하다는 것을 의미한다.

메틸기를 cytosine 링에 전달하는 효소로는 cytosine 5-

methyltransferase 또는 DNA methyltransferases (DNMTs)가 알려져 있다. 포유류에서는 Dnmt1, Dnmt3a, Dnmt3b 세 종류의 DNMTs가 발견되었다⁵⁻⁷⁾. Dnmt1은 포유류의 주요 DNMTs로서 성장하는 세포 어디서나 존재하고 핵내 DNA replication foci에 모여 있으며, 부모 DNA 가닥으로부터 메틸화 정보를 새로이 생성되는 상보적인 DNA가닥에 정확하게 복사는 기능을 하는데, 이를 보존성 메틸화(maintenance methylation)라고 한다. 분리 정제한 Dnmt1 단백질은 in vitro상에서 메틸화가 전혀 없는 DNA보다는 양 가닥 중 한 가닥에 메틸화된 hemimethylated DNA를 더 잘 메틸화시킨다. 반면에 Dnmt3a와 Dnmt3b는 주로 이전에 메틸기가 없던 CpG를 새로이 메틸화하는 기능을 하며 이를 신생 메틸화 (de novo methylation)라고 한다. 이들은 배아 줄기세포, 초기의 배아, 그리고 발달하는 생식세포에서 고농도로 발현되지만 분화된 체세포에서는 낮은 농도로 발현된다⁸⁾. 유전자 연구를 통해 Dnmt3a와 Dnmt3b가 배아줄기세포나 착상 후 배아에서 일어나는 신생 메틸화에 필수적이며 또한 생식세포에서 각인 유전자(imprinting gene)의 신생 메틸화 패턴을 유지하는 기능도 있다⁹⁾.

2. CpG islands와 CpG islands 메틸화

인간의 유전체에서 CpG dinucleotide의 빈도는 매우 낮으며 이를 CpG suppression이라고 하는데, 특정 부위에서는 CpG의 빈도가 기대 수치정도 또는 그 이상으로 관찰된다. 이곳은 DNA의 평균 100 kb당 발생하고 대개 길이가 0.5-5 kb 정도이며, 이를 CpG islands (CpGIs)라고 한다³⁾. Takai와 Johns 등¹⁰⁾은 CpGIs를 500 bp 이상 길이이면서 55% 이상의 GC content를 가지고 0.65의 CpG/expected CpG를 나타내는 부위라고 정의하였다. CGIs는 주로 유전자의 5' 부위에서 발견되고 인체 유전자의 약 50-70%의 프로모터 (promoter)에 존재한다. 세포 생존에 필수적인 단백질을 암호화하고 있는 90% 이상의 house keeping genes와 특정조직에서만 발현되는 단백질을 코드하는 40%의 tissue-specific genes의 프로모터에서 CGIs가 발

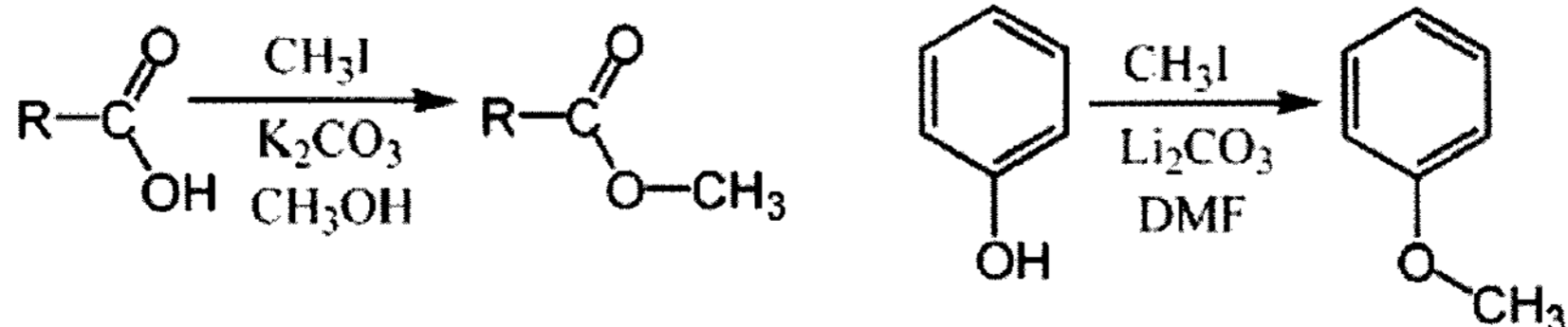


Fig. 1. Methylation is the alkylating process used to describe the delivery of a CH₃ group.

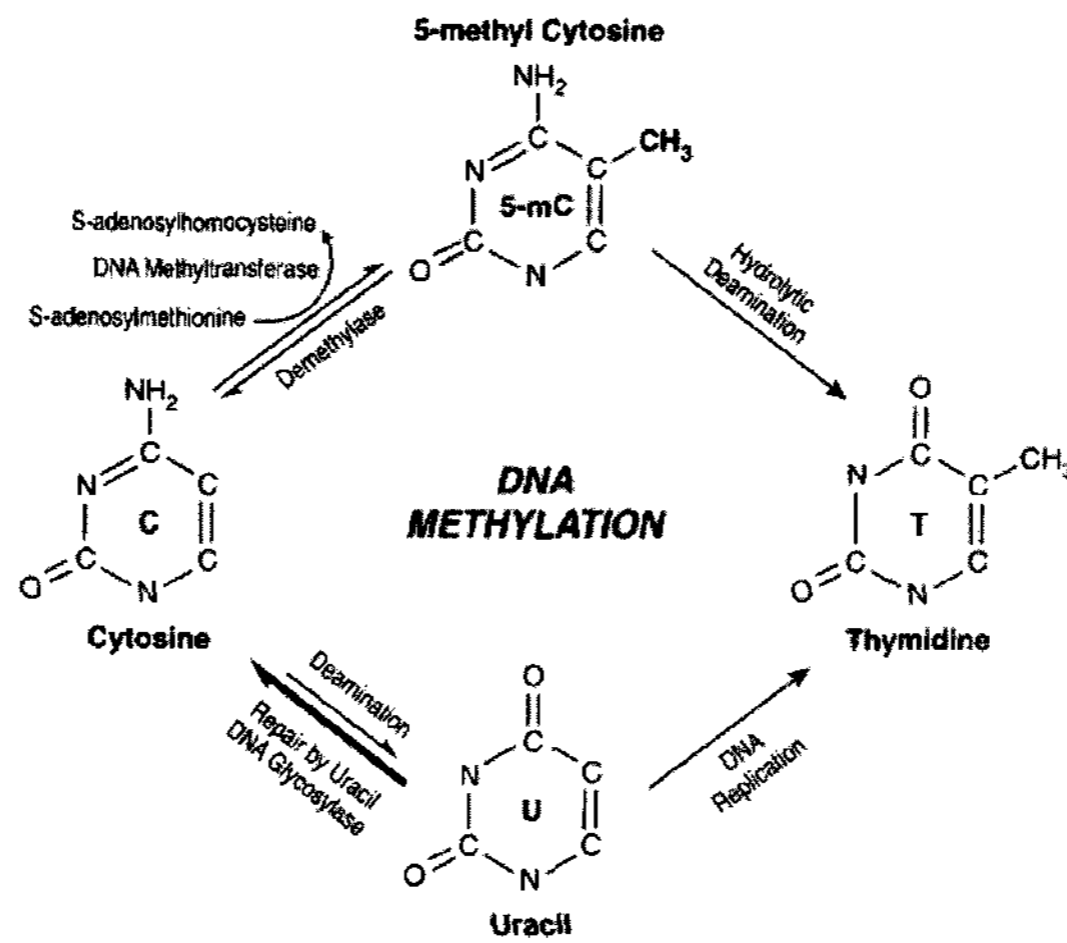


Fig. 2. Cytosine methylation, demethylation, and mutagenesis of cytosine and 5' -mc (by Singal and Ginder)³⁾.

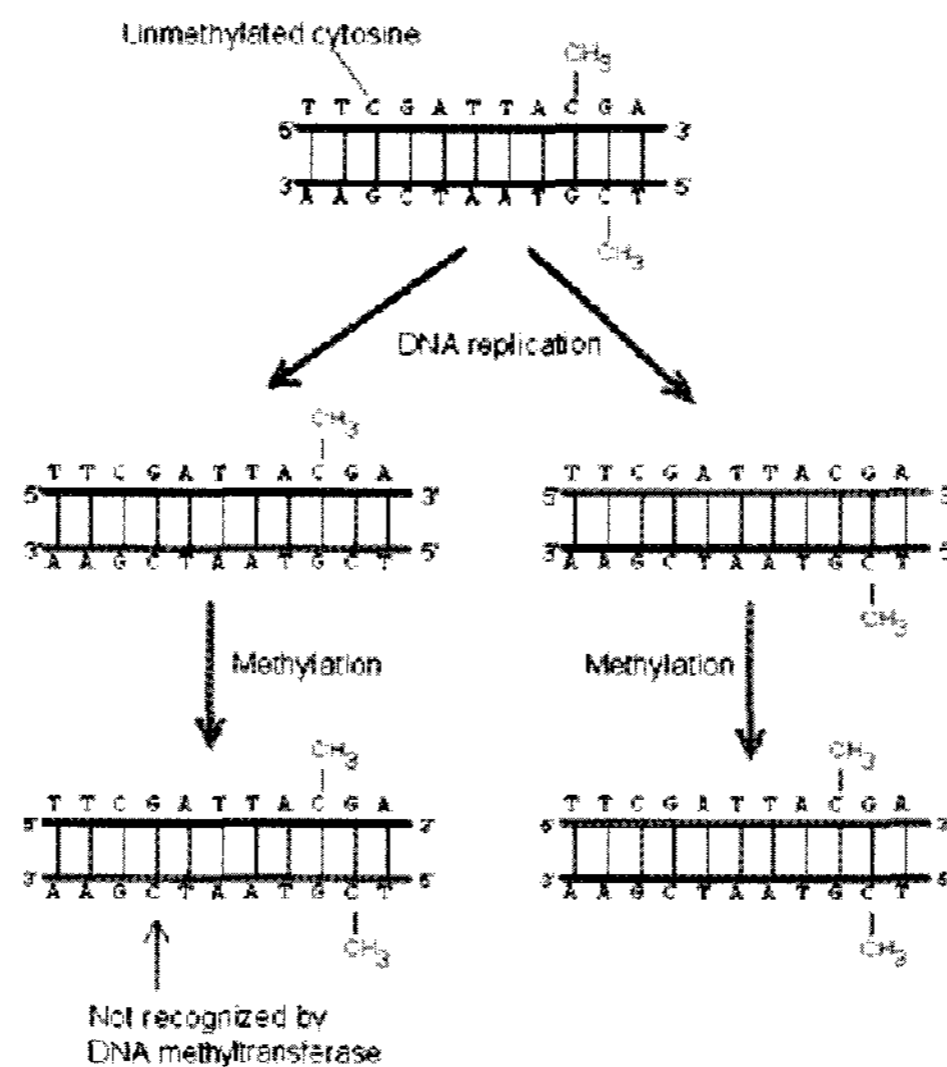


Fig. 3. Inheritance of the DNA methylation pattern. The DNA methyltransferase can methylate only the CG sequence with methylated CG. The CG sequence not paired with methylated CG will not be methylated. Hence original pattern can be maintained after DNA replication.

견되었다¹¹⁾. 이는 CpG islands가 유전자의 전사조절에 관련되어 있을 가능성을 시사한다. 메틸화에 의한 유전자의 전사억제는 자손세포에 전달되며, 유사분열을 통해 생성된 딸세포에서도 동일한 유전자의 CGIs가 메틸화된다(Fig. 3).

CpGIs의 특징은 메틸화가 없다는 것(unmethylated), CG content가 높다는 것, 개방된 크로마틴(chromatin) 구조를 갖는 것 등이다. 이 부위는 60-70%의 CG content를 보이고, 크로마틴은 심한 아세틸화와 histone 1의 결핍,

nucleosome-free region을 나타낸다.

CpGIs가 아닌 다른 부위에서는 GpG는 대부분 메틸화되어 있으며, methylcytosine은 자연적으로 탈아민화(deamination)에 의해 thymine으로 변환되어 CpG가 TpG로 전환된다. 전환된 TpG mismatch가 DNA 복제가 일어나기 전에 DNA repair system의 의하여 교정되지 않으면 자손세포에 전달될 수 있다. 그 결과 CpG수가 감소될 수 있다. 하지만 돌연변이에 의하여 새로운 CpG가 생성되기 때문에 그 빈도가 유지될 수 있다¹²⁾.

GC content는 일정 길이 내의 총 염기수 중에서 guanine과 thymine 수의 합이 차지하는 백분율인데, 인간에서 CpG islands가 아닌 부위에서는 41%, CpG islands부위에서는 67%로 CpGIs에서는 GC content가 높아 CpG가 발견될 확률이 높다고 예상할 수 있다.

CpGIs부위의 크로마틴은 histone H3와 H4의 과아세틸화(hyperacetylated), histone H1의 결핍, positioned nucleosome, nucleosome-free region 등으로 외부인자들이 접근하기 쉬운 구조를 가지고 있다. 만일 CpGIs 부위가 메틸화되면 크로마틴은 폐쇄적인 구조로 바뀌고 유전자 발현이 억제된다.

CpGIs 내의 메틸화는 생리적으로 유전체 각인 (genomic imprinting)과 X-염색체의 불활성화 (X-chromosome inactivation), 그리고 병리적으로 발육성 질환, 암발생, 그리고 줄기세포의 성장과 분화와 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 몇몇 유전자에서 CpGIs의 메틸화는 정상세포의 전사 억제와 연관되지만, promoter CGIs보다는 intragenic CpGIs에서 발생한다. 최근 세 개의 인간 염색체(염색체 6, 20, 22)의 DNA 메틸화를 연구한 논문에 의하면 작은 단위의 프로모터 영역 CpGIs이 다양한 정상조직에서 메틸화되어 있지만 10%이하의 CpG density를 나타낸다고 한다¹³⁾.

CpGIs의 메틸화가 유전자의 발현을 억제하는 기전은 아직 명확하게 밝혀지지 않았지만, 메틸 cytosine에 MeCP2와 같은 메틸 DNA 결합 단백질이 붙고, 여기에 histone deacetylase 등을 내포한 단백질복합체가 동원되어 histone을 탈아세틸화시켜, 크로마틴을 밀집화된 폐쇄구조 (closed chromatin structure)로 변화시킨다. 폐쇄적인 구조를 갖게 된 프로모터에는 전사인자가 붙을 수 없고 결과적으로 유전자 발현은 억제된다(Fig. 4). Silenced promoter의 메틸화된 cytosine은 histone deacetylases(HDACs)를 포함하는 복합형으로 methyl-CpG-binding-domain proteins(MBDs)이라는 억압 단백질(repressive protein)의 특정 그룹과 결합한다. HDACs는 histone의 N-terminal end(tail)에서 아미노산으로부터 아세틸 그룹을 제거할 수 있다. 이러한 과정에는 heterochromatin의 폐쇄된 크로마틴 구조(closed chromatin structure)가 관여한다. 반대로 메틸화되지 않은 cytosine을 가진 전사가 활발한 promoter는 histone acetyltransferase(HATs)에 의하여 아세틸화되고, 이것은 transcription factor와 co-activator proteins로 이루어진 transcription activator complex를 형성한다¹⁴⁾.

3. X-염색체 불활성화 (X-chromosome Inactivation, XCI)와 메틸화

X-불활성화란 여성 포유동물에 존재하는 두 개의 X 염색

체 중 하나가 불활성화되는 과정이다. 여성의 세포(XX)는 남성의 세포(XY)에 비해 하나 더 많은 X 염색체를 가지고 있어 두 개의 X 염색체에 의한 과도한 유전정보를 차단할 필요성이 있다. X 염색체 불활성화는 무작위로 일어나며 불활성화된 염색체는 평생 유지된다. 불활성화된 염색체는 억제된 heterochromatin(repressive heterochromatin) 형태로 존재한다. 생쥐 세포에는 two-cell 또는 four-cell stage embryos 때 부성 유래 X 염색체가 각인 불활성화(imprinted inactivation) 과정을 거친다^{15,16)}.

X inactivation center(XIC)가 X 염색체 불활성화에 중요한 역할을 하는데, 이곳에서부터 불활성화가 시작되어 X 염색체 전체로 퍼진다. 상염색체(autosome) 상에 XIC를 전위시키면 상염색체를 불활성화시킬 수 있으며, XIC가 부족한 X 염색체는 불활성화되지 않는다¹⁷⁾.

XIC는 X 염색체 불활성에는 Xist와 Tsix, 두 개의 non-translated RNA 유전자가 관여한다. Xist RNA는 X 불활성화에 주로 관여하는 데 불활성화된 X 염색체는 Xist RNA에 의하여 코팅되어 있는 반면, 활성화된 X 염색체는 그렇지 않다. Xist gene은 불활성화된 X 염색체로부터 표현되는 유일한 유전자이며, Xist 유전자가 부족한 X 염색체는 불활성화될 수가 없다. 인위적으로 다른 염색체상에 Xist 유전자를 이식하면 그 염색체를 불활성화시킬 수 있다. X-불활성화 전에 두 개의 X 염색체는 Xist 유전자로부터 Xist RNA가 약하게 표현되고, 불활성화 과정 중에 불활성화된 X 염색체는 드라마틱하게 Xist RNA의 생성이 증가하지만 불활성화된 X 염색체는 Xist 표현이 중단된다¹⁸⁾.

Tsix RNA는 Xist의 negative regulator로서 Tsix 표현이 부족한 X 염색체(Xist 전사가 높은)는 정상 염색체에 비해 빈번하게 비활성화된다. Xist와 마찬가지로 불활성화 전에 두 개의 염색체는 Tsix 유전자로부터 Tsix RNA가 표현된다. X-불활성화가 시작되면 활성화된 X 염색체는 몇 일 동안 지속적으로 Tsix를 표현하지만, 불활성화된 염색체는 Xist 표현이 증가하면서 Tsix RNA 표현은 중단된다¹⁹⁾.

X-불활성화 과정에서 histone 메틸화의 역할에 대한 연구에서 H3-K4의 메틸화도 중요한 기능을 하는 것으로 알려졌다^{17,20)}. Xist RNA가 X 염색체를 코팅하고 난 후에 histone H3-K9의 메틸화가 일어나는데 이 메틸화는 X 염색체에 위치한 유전자들의 전사차단이 일어나기 전에 일어난다. Xist RNA가 histone H3-K9 메틸전달효소와 histone deacetylase를 사용하여 heterochromatin을 형성하고 이것이 X 염색체 전체로 퍼져 나간다.

활성화된 X 염색체에 비해 비활성화된 X 염색체는 gene silencing과 연관된 특성을 나타낸다. 즉, 높은 수준의 DNA 메틸화, 낮은 수준의 histone 아세틸화, 낮은 수준의 histone H3 lysine-4 메틸화, 높은 수준의 histone H3 lysine-9 메틸화를 나타낸다.

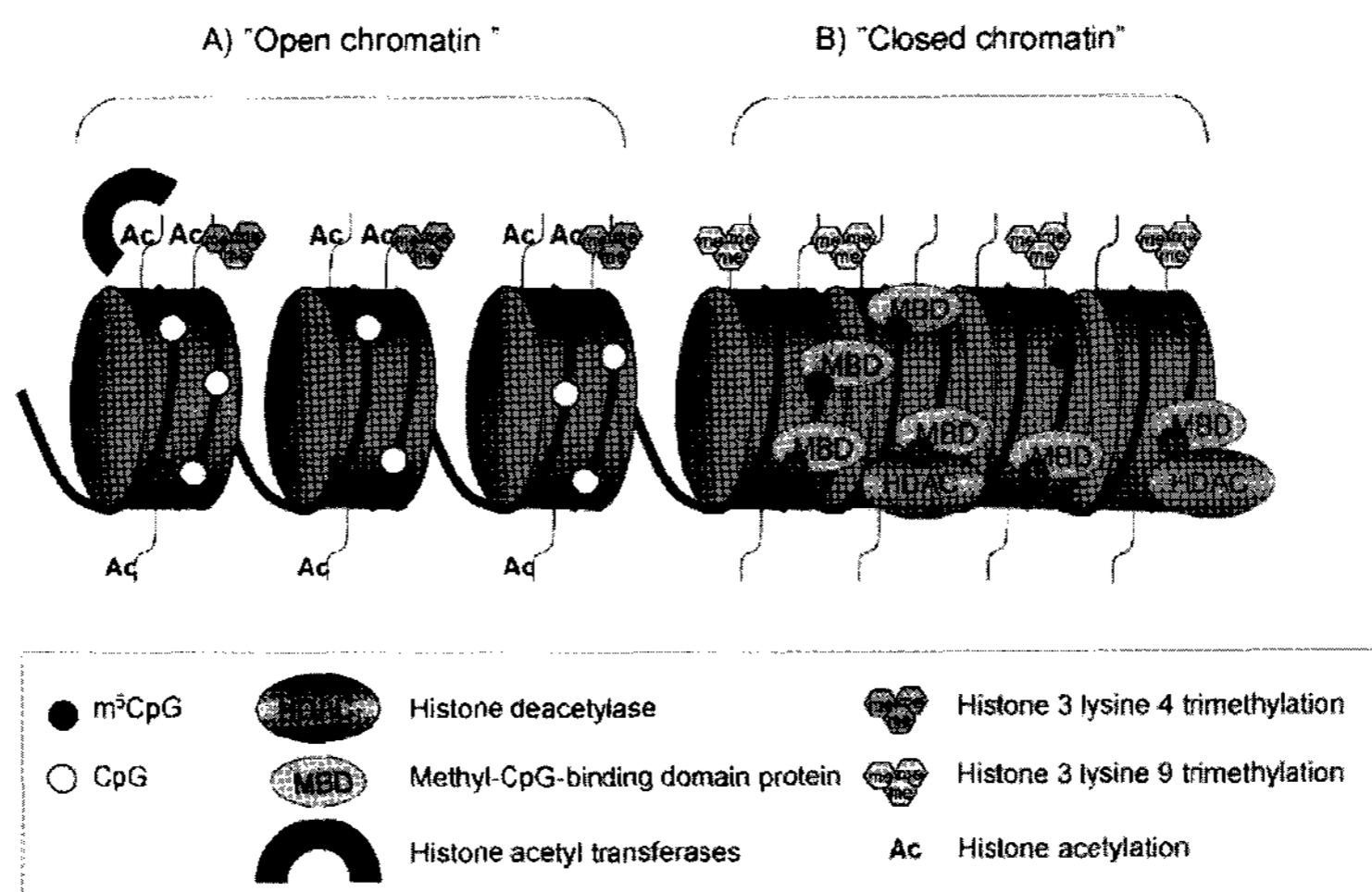


Fig. 4. Chromatin structures of active and inactive promoters. A) Transcriptionally active chromatin is characterized by unmethylated cytosines and acetylated histone tails. Lysine 4 on histone H3 is trimethylated. B) When cytosines become methylated they bind MBDs that attract HDACs, which then remove acetyl groups from the histone tails. The DNA becomes coiled into a closed chromatin structure carrying the silencing mark histone H3 lysine 9 trimethylation (by Gronbaek and Jones)¹⁴⁾.

불활성화된 X는 핵 안에 “Barr body”라고 불리우는 분리된 body를 형성하고 주로 핵의 주변부에 위치하는데 불활성화된 염색체, heterochromatin modifications 그리고 Xist RNA를 포함하고 있다.

X-염색체의 copy 수와 연관된 질환으로 Klinefelter’s syndrome, Triple X syndrome, Turner syndrome 등이 있다. Klinefelter’s syndrome은 수컷 세포에서 특징적으로 XXY의 형태로 한 개 또는 그 이상의 여분의 X 염색체를 가지고 있어 고환의 기능이상, 테스토스테론의 저하 등 수컷으로서 성발육에 이상을 나타낸다. Triple X syndrome은 암컷 세포에 여분의 X 염색체를 가지는 질환으로 XXX 또는 trisomy X 형태로 존재한다. 지능저하, 큰 평균 신장을 보이고 자녀에게 물려지지는 않는다. Turner syndrome은 암컷 세포가 정상적으로 하나의 X 염색체를 가지고 있으나 다른 하나의 성염색체가 상실되거나 변형되어 monosomy X를 갖는다.

4. 유전체 각인(Genomic Imprinting)과 메틸화

유전체 각인이란 gametogenesis 과정 중에 모성 및 부성 유전체에 조건을 새기는 것으로 모성과 부성 대립유전자 중 한 쪽 대립 유전자가 배타적으로 또는 훨씬 많이 발현되는 것이다. 이는 발생 기간 중 모성과 부성 기원 대립 유전자 중, 어느 한 쪽만 배타적으로 발현되도록 남자와 정자에서 DNA 메틸화에 의한 후생 유전적 기전으로 각인된다.

1980년대 중반 포유류에서 유전체 각인의 존재가 알려졌는데, 정상적인 성장을 위해서는 모성, 부성 유전체 모두가 필요한 것으로 알려졌다. 수정된 난자 안의 여성과 남성 pronuclei를 대체한 생쥐실험을 통해 두 개의 모성 유전체를 가진 bi-maternal (gynogenetic) 배아는 성장지연과 placenta와 yolk sac 등 extraembryonic tissue의 과성장을 보였으며, 두 개의 부성 유전체를 가진 bi-paternal (androgenetic) 배아는 초기에 발달 과정이 정지되고 extraembryonic tissue의 과성장을 밝혀냈다¹⁶⁾. Uniparental disomies(UPDs)를 갖도록 교배시킨 생쥐는 정상적인 DNA의 양을 갖지만 비정상적인 표현형을 나타낸다. 이러한 비정상적인 표현형은 UPDs를 만든 유전체나 유전체의 영역에 따라 비정상적인 행동뿐만 아니라 과성장이나 성장지연을 포함한다²¹⁾.

유전체 각인의 기전으로 DNA 메틸화가 유력하다. DNA 메틸화는 유전자를 억제할 수 있고 epigenetic marker로서 자손세포에 전달이 가능하며, maintenance methyltransferase가 없는 상태 또는 활동성 demethylase의 존재 하에서 DNA 복제가 이루어질 경우 삭제될 수도 있다. 많은 각인 유전자들은 allele-specific DNA 메틸화를 나타내고, maintenance methyltransferase이 없거나 methyltransferase inhibitors가 존재하는 경우 몇몇 유전자의 각인이 소실될 수도 있다²¹⁾.

각인 유전자들의 80% 정도는 다른 각인 유전자들과 함께 클러스터(cluster)를 이루고 물리적으로 연결되어 있다. 클

러스터에는 각인 센터(imprinting center) 또는 각인 조절 구역(imprinting control region)이 발견되는데, 각인 센터는 일정 구역 내의 각인 유전자들의 각인 자체와 각인된 발현을 조절하는데 필요한 것으로 생각된다. 각인 유전자들에서는 반복 시퀀스들에 의해 둘러싸여있는 CpG islands를 흔히 볼 수 있는데, 이러한 반복 시퀀스는 인접한 CpG islands와 함께 각인 대립 유전자의 차별적 메틸화를 만들거나 유지하는데 관련되어 있다²²⁾. 각인 유전자의 모성 및 부성 대립유전자는 메틸화 패턴에서 차이를 보인다. Differentially methylated regions(DMRs)은 생식세포와 체세포에서 다른 메틸화 패턴을 보인다. 각인 유전자 클러스터에서 단백질로 전이되지 않는 untranslated RNA, antisense RNA를 코딩하는 유전자가 발견되었는데 각인 발현 조절에 관여할 것으로 추정되고 있다²³⁾.

포유류에서 각인 유전자는 태반생성의 발달을 포함한 배아의 성장과 발달을 조절하는 것으로 생각되며, suckling과 신진대사를 조절하고 생후 발달에 관여한다^{24,25)}.

인간 상염색체에는 최소 6개의 각인 도메인(imprinting domain)이 존재하고, 각 도메인은 다른 메틸화 구역을 갖는 imprinting center의 조절을 받는다. 이 6개 도메인의 비정상과 관련된 증후군이 있는데, transient neonatal diabetes(TND;6q²⁴⁾, Beckwith-Wiedemann syndrome(BWS), 그리고 Silver-Russell syndrome(11p15.5;2 imprinted domains), maternal 그리고 paternal uniparental disomy syndromes(14q32), Angelman and Prader-Willi syndromes(15q11-13), 그리고 pseudohypoparathyroidism type 1b (20q12-13) 등이 알려져 있다²⁶⁾. TND는 paternally imprinted chromosomal region 6q24의 결손과 KCNJ11 또는 ABCC8의 변이에 의하여 발생한다. BWS는 산전 태아의 과도성장, 출생기형, 윌름즈 종양 등을 특징으로 하며, 이 환자들의 50% 정도는 모성 KCNQ1OT-DMR의 histone H3 Lys9의 상실을 동반한 DNA methylation의 상실을 나타내고, 결국 각인 상실은 CDKN1C의 표현을 억제한다. 염색체 11p15.5에 존재하는 CDKN1C/KCNQ1OT는 imprinting center에 의하여 조절되는 9개의 imprinted gene을 가지고 있다. CDKN1C는 cyclin-dependent kinase inhibitor를 코딩하며, 모성 유전자 발현과 연관된 imprinted gene이다²⁷⁾. Prader-Willi syndrome (PWS)는 염색체 15q11-13의 1.5-Mb의 paternally expressed genes의 기능장애로 발생하는 복합적 신경행동장애 질환으로 모성기원으로 이체화(disomy)되어 있고, Angelman 증후군은 부성기원으로 이체화되어 있다²⁸⁾.

1991년 Haig와 Graham 등²⁹⁾은 유전체 각인을 보호하는 기전으로 "intergenomic conflict theory"를 제시하였다. Igf2와 Igf2r 두 개의 prototypical imprinted genes을

knockout시킨 생쥐를 이용한 실험에서 insulin-like growth factor-II를 암호화하는 Igf2는 부성 대립형질이 표현되고 모성 대립형질이 억제되도록 각인되어 있는 반면, circulation Igf2 peptide를 위한 clearance receptor를 암호화하는 Igf2r 유전자는 모성 대립형질이 표현되고 부성 대립형질이 억제되도록 각인되어 있는 것을 발견하였다.

5. 암생성과 연관된 DNA 메틸화의 역할

일반적으로 암세포는 전체적인 유전체 저메틸화(global genomic hypomethylation)와 정상 세포에서는 메틸화가 되지 않은 CpGIs의 과메틸화(hypermethylation)의 특징을 나타낸다^{14,30,31)}.

Global DNA 저메틸화는 암세포에서 흔히 발견되는데 주로 반복 염기서열(repetitive sequence)에서 발생하지만, 특정 유전자와 연관되어 있을 수도 있다. 대장암에서 LINE-1 repetitive sequences의 점진적 저메틸화는 정상 상피세포가 이형성, 암발생 과정에 연관이 있는 것으로 알려져 있다³²⁾. 이 밖에도 갑상선암, 유방암, 전립선암, 방광암, 위암, 폐암, 식도암, 간암, 구강암 등과 저메틸화의 관련성이 보고되었다.

흔히 promotor 저메틸화는 전체적인 저메틸화와 연관이 있는데, promotor CpG 저메틸화는 유전자 발현을 증가시키고 proto-oncogenes을 활성화시킬 수 있다. 예를 들어, 세포외 기질과 세포막의 퇴화(degradation)에 중요한 역할을 하는 heparanase는 악성종양에서 흔히 증가(up-regulated)된다. 방광암의 발생과정에서 증가된 heparanase의 표현은 early growth response gene-1(EGR-1)의 promotor CpG 저메틸화 때문이다³³⁾. Trefoil factor 3(TFF3)는 hepatocellular carcinogenesis 과정에서 증가하는데, promotor CpG -260의 저메틸화가 hepatocellular carcinoma와 밀접한 관련성이 있는 것으로 알려졌다³⁴⁾. 전체적인 저메틸화와 p-16, p-15 유전자의 promotor hypomethylation은 구강암과 관련이 있는데, 진행된 구강암일수록 저메틸화 정도가 증가하였으며, 흡연이나 음주 정도와 저메틸화의 정도에 연관이 있는 것으로 밝혀졌다^{35,36)}.

또 다른 종양세포의 특징은 CpGIs의 과메틸화이다. CpGIs의 과메틸화에 의하여 세포주기조절, DNA 치유, 세포사멸, 약물저항, 해독작용, 분화, 혈관신생, 전이 등에 관여하는 유전자들의 epigenetic silencing이 악성종양의 원인이 될 수 있다. 암의 종류에 따라 다양하고 다른 유전자들이 메틸화되는데, 위암(hMLH1, MGMT, GSTP1)³⁷⁾, 비소세포성 폐암(E-cadherin, RASSF1A, FH1T, RARbeta, BLU, APC)^{38,39)}, 유방암(RASSF1A, ER)^{40,41)}, 간암(HIC-1, p16, RASSF1A, p53)⁴²⁾, 대장암(APC, HLTF, MGMT, hMLH1, ATM, E-cadherin, DAPK)^{43,44)}, 그리고

구강상피세포암(p14 ARF, hMLH1, MGMT, E-cadherin, p-16, p-15)^{45,46)}, 두경부 상피세포암(hMLHa, MGMT, RARbeta, p-16)^{47,48)} 등이 알려져 있다.

Ⅲ. 요약

DNA 메틸화는 histone modification과 함께 DNA의 염기서열이 유지되면서 유전기능이 변화되고 자손까지 전달될 수 있는 후생 유전의 중요한 한 부분이다. DNA 메틸화는 크로마틴의 구조를 변경시키는 과정을 통하여 유전자와 repetitive sequence의 표현을 억제시킬 수 있다. DNA 메틸화는 X-불활성화, 유전체 각인, 유전자 발현조절, 암생성 등에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌고, DNA 메틸화 표지자 (DNA methylation marker)들은 종양의 진단과 치료에 대한 반응을 예측하는 지표로 활용되고 있다.

지금까지 많은 연구 성과에도 불구하고 DNA 메틸화, 메틸화에 의한 gene silencing, DNA 메틸화의 표적부위 등에 대한 명확한 기전이 아직도 밝혀지지 않고 있어 향후 더 많은 기초적 연구가 필요할 것이다.

최근에는 후생 유전적 변화는 가역적이기 때문에 종양억제유전자를 억압하는 후생 유전적 변화를 제거한다면 그 종양억제유전자를 다시 활성화시킬 수 있다는 개념의 후생유전 치료법 연구로 DNA 메틸화 억제제와 histone deacetylation에 관여하는 HDAC의 억제제들이 항암제로서 개발되어 사용되고 있는데 향후 더 많은 약제 개발과 임상적 연구가 진행되어야 할 것이다.

참고문헌

1. KH Kang : Epigenetics; Understandings about DNA methylation in carcinogenesis. KMB Co. 2007.
2. Weissbach A : A chronicle of DNA methylation.(1948-1975). EXS 64 : 1, 1993.
3. Singai R, Ginder GD : DNA methylation. Blood 93 : 4059, 1999.
4. Miranda TB, Johnes PA : DNA methylation: the nuts and bolts of repression. J Cell Physiol 213 : 384, 2007.
5. Bestor T, Laudano A, Mattaliano R et al : Cloning and sequencing of a cDNA encoding DNA methyltransferase of mouse cells. The carboxyl-terminal domain of the mammalian enzymes is related to bacterial restriction methyltransferase. J Mol Biol 203 : 971, 1988.
6. Okano M, Bell DW, Haber DA et al : DNA methyltransferase Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. Cell 99 : 247, 1999.
7. Xie S, Wang Z, Okano M et al : Cloning, expression and

- chromosome location of the human DNMT3 gene family. Gene 236 : 87, 1999.
8. Chen T, Ueda Y, Xie S : A novel Dnmt3a isoform produced from an alternative promoter localizes to euchromatin and its expression correlates with active de novo methylation. J Biol Chem 277 : 38746, 2002.
9. Hata K, Okano M, Lei H et al : Dnmt3L cooperates with the Dnmt3 family of de novo DNA methyltransferases to establish maternal imprints in mice. Development 129 : 1983, 2002.
10. Takai D, Jones PA : Comprehensive analysis of CpG islands in human chromosomes 21 and 22. Proc Natl Acad Sci USA 99 : 3740, 2002.
11. Ponger L : Determinants of CpG islands : expression in early embryo and isochore structure. Genome Res 11 : 1854, 2001.
12. Sved J, Bird A : The expected equilibrium of the CpG dinucleotide in vertebrate genomes under a mutation model. Proc Natl Acad Sci USA 87 : 4692, 1990.
13. Dallosso AR, Hancock AL, Moorwood K et al : Genomic imprinting at the WT1 gene involves a novel coding transcript (AWT1) that shows deregulation in wilms tumors. Hum Mol Genet 13 : 405, 2004.
14. Gronbaek K, Hother C, Jones PA : Epigenetic changes in cancer. APMIS 115 : 1030, 2007.
15. Cheng MK, Disteché CM : Silence of the fathers: early X inactivation. BioEssays 26(8) : 821, 2004.
16. McGrath J, Solter D : completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. Cell 37 : 179, 1984.
17. Heard E, Clerc P, Avner P : X-chromosome inactivation in mammals. Annu Rev Genet 31 : 571, 1997.
18. Plath K, Mlynarczyk-Evans S, Nusinow D et al : Xist RNA and the mechanism of X chromosome inactivation. Annu Rev Genet 36 : 233, 2002.
19. Ohhata T, Hoki Y, Sasaki H et al : Tsix-deficient X chromosome does not undergo inactivation in the embryonic lineage in male: implications for Tsix-independent silencing of Xist. Cytogenet Genome Res 113 : 345, 2006.
20. Heard E, Rougenulle C, Arnaud D et al : Methylation of histone H3 at Lys-9 is an early mark on the X chromosome during X inactivation. Cell 107 : 727, 2001.
21. Tycko B, Morison JM : Physiological functions of imprinted genes. J Cell Physiol 192 : 245, 2002.
22. Reik W, Walter J : Genomic imprinting: parental influence on the genome. Nat Rev Genet 2 : 21, 2001.
23. Jaenisch R, Bird A : Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. Nat Genet 33 suppl : 245, 2003.
24. Isles, AR, Holland AJ : Imprinted genes and mother-offspring interactions. Early Hum Dev 81(1) : 73, 2005.
25. Constancia M : Resourceful imprinting. Nature 432(7013) : 53, 2004.
26. Temple IK : Imprinting in human disease with special reference to transient neonatal diabetes and Beckwith-Wiedemann syndrome. Endocr Dev 12 : 113, 2007.
27. Higashimoto K, Soejima H, Saito T et al : Imprinting disruption of the CDKN1C/KCNQ1OT1 domain: the molecular mechanisms causing Beckwith-Wiedemann syndrome

* abbreviations: hMLH1: human DNA mismatch repair protein homolog, MGMT: O6-methylguanine-DNA methyltransferase, GSTP1: Glutathione S-transferase P1, HIC-1: hypermethylated in cancer-1, RASSF1A: Ras-association domain family 1A, DAPK: death-associated protein kinase, APC: adenomatous polyposis coli, RARbeta: retinoic acid receptor isoform beta, ER: estrogen receptor

- and cancer. *Cytogenet Genome Res* 113 : 306, 2006.
28. Galvan-Nanso M, Campistol J, Conill J et al : Analysis of the characteristics of epilepsy in 37 patients with the molecular diagnosis of Angelman syndrome. *Epileptic Disord* 7 : 19, 2005.
 29. Haig D, Graham C : Genomic imprinting and the strange case of the insulin-like growth factor II receptor. *Cell* 22 : 1045, 1991.
 30. Riggs AD, Jones PA : 5-methylcytosine, gene regulation, and cancer. *Adv Cancer Res* 40 : 1, 1983.
 31. Johns PA, Baylin SB : The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat Rev Genet* 3 : 415, 2002.
 32. Chalitchagorn K, Shuangshoti S, Hourpai N et al : Distinctive pattern of LINE-1 methylation level in normal tissues and the association with carcinogenesis. *Oncogene* 23 : 8841, 2004.
 33. Ogishima T, Shiina H, Breault JE : Promoter CpG hypomethylation and transcription factor EGR1 hyperactivate heparanase expression in bladder cancer. *Oncogene* 24 : 6765, 2005.
 34. Okada H, Kimura MT, Tan D : Frequent trefoil factor 3 (TFF3) overexpression and promoter hypomethylation in mouse and human hepatocellular carcinomas. *Int J Oncol* 26 : 369, 2005.
 35. Smith IM, Mydlarz WK, Nithani SK : DNA global hypomethylation in squamous cell head and neck cancer associated with smoking, alcohol consumption and stage. *Int J Cancer* 15 : 1724, 2007.
 36. Wong TS, Man MW, Lam AK et al : The study of p16 and p15 gene methylation in head and neck squamous cell carcinoma and their quantitative evaluation in plasma by real-time PCR. *Eur J Cancer* 39 : 1881, 2003.
 37. Hong SH, Kim HG, Chung WB et al : DNA hypermethylation of tumor-related genes in gastric carcinoma. *J Kor Med Sci* 20 : 236, 2005.
 38. Marsit CJ, Kim DH, Liu M et al : Hypermethylation of RASSF1A and BLU tumor suppressor genes in non-small cell lung cancer: implications for tobacco smoking during adolescence. *Int J Cancer* 114 : 219, 2005.
 39. Maruyama R, Sugio K, Yoshino K et al : Hypermethylation of FHIT as a prognostic marker in non-small cell lung carcinoma. *Cancer* 100 : 1472, 2004.
 40. Li S, Rong M, Iacopetta B : DNA hypermethylation in breast cancer and its association with clinicopathological features. *Cancer Lett* 18 : 272, 2005.
 41. Yeo W, Wong WL, Wong N et al : High frequency of promoter hypermethylation of RASSF1A in tumorous and non-tumorous tissue of breast cancer. *Pathology* 37 : 125, 2005.
 42. Park HJ, Yu E, Shim YH : DNA methyltransferase expression and DNA hypermethylation in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett* 233 : 271, 2006.
 43. Bai AH, Tong JH, To KF et al : Promoter hypermethylation of tumor-related genes in the progression of colorectal neoplasia. *Int J Cancer* 112 : 846, 2004.
 44. Lee S, Hwang KS, Lee HJ et al : Aberrant CpG island hypermethylation of multiple genes in colorectal neoplasia. *Lab Invest* 84 : 884, 2004.
 45. Ishida E, Nakamura M, Ikuta M et al : Promoter hypermethylation of p14ARF is a key alteration for progression of oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 41 : 614, 2005.
 46. Viswanathan M, Tsuchida N, Shanmugam G : Promoter hypermethylation profile of tumor-associated genes p16, p15, hMLH1, MGMT and E-cadherin in oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 105 : 41, 2003.
 47. Maruya SI, Issa JP, Weber RS et al : Differential methylation status of tumor-associated genes in head and neck squamous carcinoma: incidence and potential implications. *Clin Cancer Res* 10 : 3825, 2004.
 48. Puri SK, Si L, Fan CY et al : Aberrant promoter hypermethylation of multiple genes in head and neck squamous cell carcinoma. *Am J Otolaryngol* 26 : 12, 2005.

저자 연락처

우편번호 130-702
 서울 동대문구 회기동 1번지
 경희대학교 치의학전문대학원 구강악안면외과학교실
오정환

원고 접수일 2008년 1월 28일
 게재 확정일 2008년 5월 13일

Reprint Requests

Jung-Hwan Oh
 Dept. of OMFS, Kyung-Hee University Dental School
 Hoegi-dong, Dongdaemun-gu, Seoul, 130-702, Korea
 Tel: 82-2-958-9440 Fax: 82-2-966-4572
 E-mail: omsojh@khu.ac.kr

Paper received 28 January 2008
 Paper accepted 13 May 2008