DNA 염기손상 치유유전자의 변이와 두경부암 발생 위험성

오정환 · 윤병욱 · 최병준
경희대학교 치의학전문대학원 구강악안면외과학교실

Abstract (J. Kor. Oral Maxillofac. Surg. 2008;34:509-517)

THE EFFECT OF GENETIC VARIATION IN THE DNA BASE REPAIR GENES ON THE RISK OF HEAD AND NECK CANCER

Jung-Hwan Oh, Byung-Wook Yoon, Byung-Jun Choi
Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Kyung-Hee University

DNA damage accumulates in cells as a result of exposure to exogenous agents such as benzopyrene, cigarette smoke, ultraviolet light, X-ray, and endogenous chemicals including reactive oxygen species produced from normal metabolic byproducts. DNA damage can also occur during aberrant DNA processing reactions such as DNA replication, recombination, and repair. The major of DNA damage affects the primary structure of the double helix; that is, the bases are chemically modified. These modification can disrupt the molecules' regular helical structure by introducing non-native chemical bonds or bulky adducts that do not fit in the standard double helix.

DNA repair genes and proteins scan the global genome to detect and remove DNA damage and damage to single nucleotides. Direct reversal of DNA damage, base excision repair, double strand break. DNA repair are known relevant DNA repair mechanisms. Four different mechanisms are distinguished within excision repair: direct reversal, base excision repair, nucleotide excision repair, and mismatch repair.

Genetic variation in DNA repair genes can modulate DNA repair capacity and alter cancer risk. The instability of a cell to properly regulate its proliferation in the presence of DNA damage increase risk of gene mutation and carcinogenesis.

This article aimed to review mechanism of excision repair and to understand the relationship between genetic variation of excision repair genes and head and neck cancer.

Key words: DNA damage, DNA repair gene, Genetic variation, Head and Neck Cancer.

Ⅰ. 서 론

DNA 손상은 세포의 정상적인 대사과정에서 형성되는 반응성 산소와 같은 내인성 요인과 자외선, 방사선, 식물독소, 화학물질, 항암치료제 등의 외인성 요인에 의하여 발생할 수 있다[1]. 매일 세포 당 1000-1,000,000개 분자의 DNA 손상 병소가 발생하는데, 이는 인간 게놈에서 3억 개 염기쌍의 약 0.000165% 정도에 불과하지만 종양억제 유전자와 같이 중요한 유전자에서 수복되지 않은 병소는 유전자의 정상적인 기능을 방해하거나 변이, 종양의 원인이 될 수 있다[2].

손상의 종류에는 싸이토신(C)이 우라실(U)로 전환되는 아미노그룹의 상실(탈아민화), DNA 복제과정에서 교정 실패로 인한 정상적인 염기의 비정상적인 결합, 단일사슬 파손 및 이중사슬 파손과 같은 골격(backbone) 손상, DNA 사슬의 교차결합(crosslink) 등이 있다[3] (Fig. 1).

DNA 수복은 세포가 게놈을 암호화하는 DNA 분자의 손상을 인지하고 교정하는 모든 과정을 의미한다. 세포의 DNA 수복 능력은 게놈의 보존, 유전자와 생체의 정상적인 기능을 유지하는데 필수적인 요소이다. DNA 수복비율은 세포의 종류와 나이, 세포외부의 환경에 따라 결정되는데 많은 양의 DNA 손상이 축적된 세포나 더 이상 손상을 효과적으로 복구할 수 없는 세포는 휴면상태(dormancy, senescence), 세포자살(cell suicide, apoptosis), 종양을 유발하는 조절되지 않는 세포분열 등 세 가지 중 하나의 경로를 택하게 된다.

지금까지 DNA 염기손상은 직접적 반전(反轉, direct reversal), 염기절단 수복(base-excision repair, BER), 뉴클레오티드절단 수복(nucleotide-excision repair, NER), 잘못된 결합 수복(mismatch repair, MMR) 등 주요 수복과정에 의해 치유되는 것으로 알려져 있다[1,4].

저자들은 참고문헌의 고찰을 통해 네 가지 DNA 염기 손상의 수복경로를 알아보고, 이 수복과정에 참여하는 유전자의 손

오 정 환
130-702 서울시 동대문구 회기동 1번지
경희대학교 치의학전문대학원 구강악안면외과교실
Jung-Hwan Oh
Dept. of OMFS, School of Dentistry, Kyung-Hee University
1 Hoegidong, Dongdaemungu, Seoul, 130-702, Korea
Tel: 82-2-958-9440 Fax:82-2-966-4572
E-mail: omsojh@khu.ac.kr

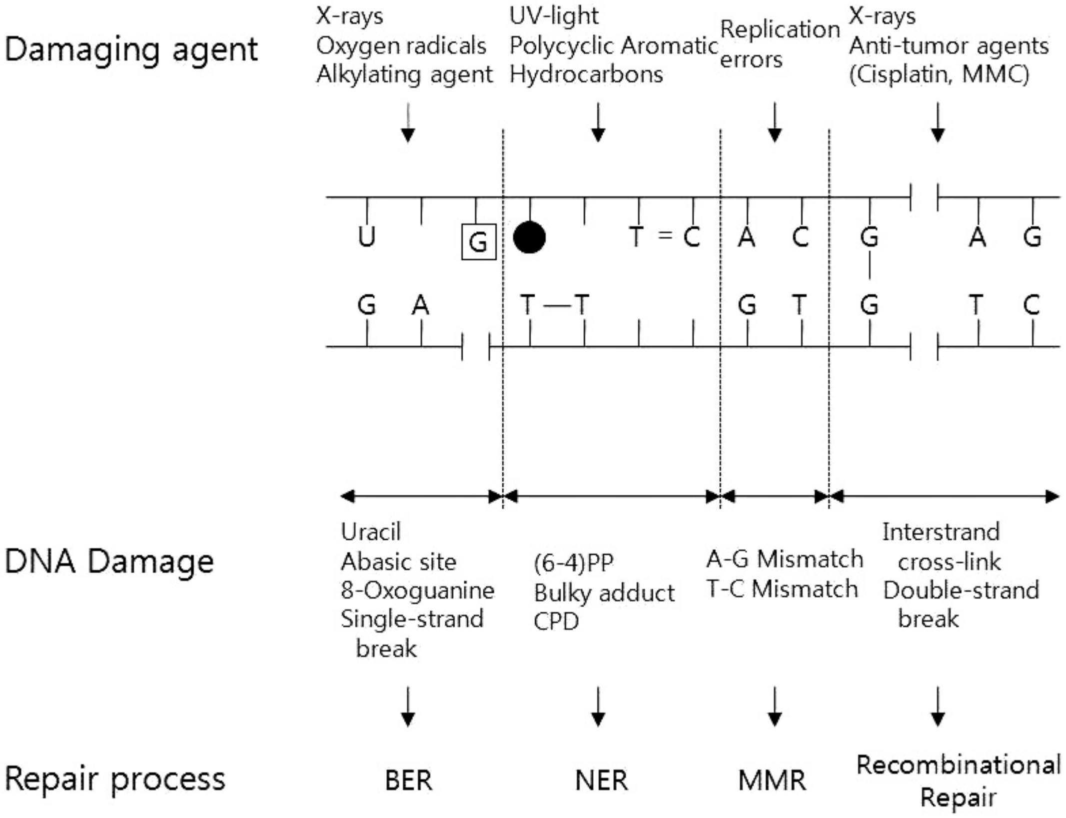

Fig. 1. Types of DNA damages and their repair pathways.

상, 결핍이 구강암 발생에 어떠한 영향을 미치는 지에 대한 이해를 넓히고자 한다.

Ⅱ. DNA 염기손상의 수복과정

1. 직접적 반전(反轉, Direct reversal)

이 기전은 phosphodiester 결합 골격의 파손이 일어나지 않는 형태의 염기 손상에만 사용되는 방법으로 손상이 네 개의 염기 중 하나에만 발생하기 때문에 주형(template)이 따로 필요없다.

자외선에 의한 싸이민 이배체의 형성은 인접한 싸이미딘 염기 사이의 비정상적인 공유결합을 야기하게 된다. 이러한 광반응과정은 300-500nm의 파란색/자외선을 흡수하여 촉진되고 활성화되는 포토리아제(photolyase)의 작용에 의하여 수복된다[5].

직접적 반전에 의해 수복되는 또 다른 손상으로 알킬화 병변으로 담배 특이성 니트로사민 (TSNAs), 니트로소우레아 등과 같은 발암성 물질과 화학요법 알킬화 약제에 의해 DNA의 구아닌 O^6부위에 메틸 그룹을 첨가되는 형태의 O^6-알킬구아닌 부가생성물에 의한 손상이 있다. 이 부가생성물은 DNA 복제 중에 씨토신 대신에 싸이민과 결합할 수 있는데 이로 인해 유전자 변이가 발생할 수 있다. O^6-메틸구아닌(O^6-mG)은 DNA 수복효소인 O^6-메틸 구아닌 메틸 전이효소(Methylguanine methyltransferase, MGMT)에 의하여 직접적으로 수복된다. MGMT는 아킬화 약물로부터 세포를 보호하는 21kDa의 단백질로 MGMT의 활성부위 씨스테인 잔기에 직접적으로 구아닌의 O^6 부위에서 알킬그룹을 전이시킴으로써 병소을 교정한다[6]. 비활성화된 alkyl-MGMT 단백질은 ATP 의존형 단백질 분해과정에 의해 퇴화된다. 각 MGMT 분자는 과정 중에 한 번만 사용될 수 있기 때문에 촉매작용보다는 화학량적인 반응으로 많은 에너지를 요구하는 고비용의 과정이다. 상대적으로 단순한 알킬 부산물을 교정하는데 고비용의 과정이 필요하다는 사실은 O^6-mG가 세포에 매우 유해하다는 것을 암시하는 것이기 때문에 구아닌의 O^6부위를 공격하는 화학요법 약제가 개발되어 임상치료에 사용되고 있다[7].

1.1. 두경부암과 연관된 직접 전도 유전자

비정상적인 MGMT 분비는 세포내 DNA에 O^6-메틸구아닌의 축적을 야기하고 MGMT 단백질의 결핍은 암유전자를 활성화시키거나 암억제 유전자를 불활성화시켜 암발생이나 암진행을 야기하고 메틸화 약물에 대한 감수성을 증가시킨다. MGMT의 농도는 기관과 개체에 따라 다양하지만 인간 정상조

직에서는 어디에서나 있는 효소이지만 두경부암을 포함한 종양조직에서는 불균일한 MGMT 발현을 나타내는데, 비정상적인 프로모터 메틸화에 의해 유전자 발현이 억제된다[8].

동물모델에서 높은 MGMT 활성도는 chloroethylnitrosoureas (CNUs)와 methylnitorsourea(MNU)에 의한 종양형성을 억제하는 것으로 알려졌다. Wang 등[9]은 식도암환자에서 높은 MGMT 유전자 변이 빈도(7/40)와 유전자 결손(2/30)을 관찰하였다. Rodriguez 등[10]은 12명의 정상 구강점막, 38명의 구강 백반증, 33명의 초기 구강 편평상피세포암을 대상으로 면역조직검사를 통해 초기 편평상피세포암과 비교했을 때 백반증 환자에서 MGMT 단백질의 발현이 더 심하게 감소되는 것을 관찰하였으며, 흡연과 MGMT 단백질의 결핍 사이에 밀접한 관련이 있는 것으로 보고하였다. 또한 MGMT의 발현감소는 구강암 발생 초기에 발생하고 예후에도 영향을 미친다고 하였다. Sawhney 등[8]은 107명의 구강상피세포암, 78명의 구강 전암병소, 30명의 정상인을 대상으로 한 면역조직학적 연구에서 MGMT 발현이 과형성부터 이형성까지의 전암병소에서 뚜렷하게 감소하였고, 임상적으로 진행된 병기의 구강암, 임파선 전이가 발생한 경우에도 감소된다고 하였다. Kato 등[11]은 22명의 구강편평상피세포암 환자를 대상으로 한 연구에서 약 68.18% 의 환자가 MGMT 유전자의 프로모터가 메틸화되었음을 관찰하였다. 인도인을 대상으로 한 연구에서는 씹는 담배와 관련된 구강편평상피세포암에서 MGMT 프로모터 메틸화가 관찰되었다[12].

MGMT는 다양한 고형암의 생존율을 예측할 수 있는 표지자로 알려져 있는데 MGMT가 부족하거나 결핍된 경우 화학요법 약제에 대한 감수성이 증가하지만, 증가된 MGMT는 알킬화 항암치료제에 대한 종양의 저항성을 증가시킨다. 뇌종양에서 MGMT 억제재로 알려진 MGMT mRNA에 O^6-알킬구아닌 유도체와 역배열 RNA (antisense RNA)의 적용 방법이 CNUs에 대해 고농도 MGMT 발현 종양의 약물내성을 감소시킬 수 있는 것으로 보고되었다[13].

2. 염기절단 수복(Base-Excision Repair, BER)

BER은 이온화 방사선이나 산화 손상에 의해 일어나는 염기의 메틸화, 산화, 환원에 의해 형성되는 "nonbulky" 한 염기 부가물이나 이온화된 방사선 또는 산화손상에 의한 염기의 파손 등을 수복하는 다단계의 과정이다[14]. DNA 글리코실라제(glycosylase)의 촉매작용에 의해 DNA로 부터 자유염기가 유리되는 것이 BER의 주된 특징이다. 포유동물의 세포에는 전문화된 기능을 가진 11개의 글리코실라제가 알려져 있다[15]. 산화성 염기 손상 수복에 관여하는 대부분의 글리코실라제는 연관된 무피리미딘/무퓨린(apyrimidic/apurinic, AP) 리아제 활동성을 가지고 3' phosphodiester 결합의 베타 제거 또는 3' 과 5' phosphodiester 결합의 베타, 델타 제거를 촉진하는데 이러한 효소를 양기능성 DNA 글리코실라제(즉, N-glycosylase/AP lyase)라고 하고 반면에, AP 리아제 활동성이 없는 효소는 단일기능성 글리코실라제라고 한다[16].

BER의 첫 단계로 8-옥소구아닌 DNA 글리코실라제(OGG1)와 같은 DNA 글리코실라아제에 의해 변경된 염기와 DNA 당-인산 결합의 N-glycosidic 결합이 절단되고, 이 절단으로 DNA사슬 내에 무피리미딘/무퓨린(AP) 또는 무염기(abasic) 부위가 형성된다. AP부위는 N-glycosidic 결합의 자연발생적인 가수분해에 의해서도 형성될 수 있다. AP 부위는 AP 엔도뉴클레아제 I(APE I)의 작용으로 AP 부위에 대한 phosphodiester 결합 5' 가 절단되고 3' OH 그룹과 일시적인 5' 무염기 디옥시리보오스(abasic deoxyribose phosphate, dRP)가 형성된다. 닉의 3' 말단에 하나의 뉴클레오티드를 추가하고 연관된 AP 리아제 활동성을 통해 dRP의 일부를 제거할 수 있는 중합효소 베타(pol β)의 작용에 의해 dRP가 제거된다. DNA 사슬의 닉은 DNA 리가제에 의하여 연결된다[1,17].

BER에는 이 과정의 약 80-90%를 차지하는 단일 뉴클레오티드를 수복하는 "짧은 패치수복" 과정(short patch BER)과 2-10개 정도의 핵산을 수복하는 "긴 패치수복" 과정(long patch BER)이 있다. 긴 패치수복은 PCNA 의존형 과정으로, DNA pol β의 AP 리아제 활동성에 대해 변경된 염기 저항성이 존재하는 경우 이용되는 과정으로 짧은 패치수복과 다르게 몇 개의 뉴클레오티드 수복을 위하여 중합효소 베타, 제타, 입실론이 필요하고, flap endonuclease 1(FEN-1)에 의하여 돌출된 올리고뉴클레티드가 잘리고 DNA 리가제에 의해 닉이 연결된다[18](Fig. 2).

2.1. 두경부암과 연관된 BER 유전자

BER 유전자와 관련된 암연구를 살펴보면, Hung 등[19]은 세 가지의 BER 유전자 OGG1, APE1/APEX1, XRCC1(X-ray repair cross complementing protein1과 암발생 위험성에 대해 연구를 하여 OGG1Cys/Cys 유전자형이 흡연과 관련된 폐암의 위험성을 증가시키고, XRCC1 399Gln/399Gln 유전자형은 경도의 흡연자에서 담배와 연관된 암발생의 위험성이 증가된 반면, 심한 흡연자에서 오히려 위험성이 감소되는 것을 관찰하였는데 이것은 흡연에 의한 효과의 변이를 암시하는 것이라고 하였다. 반면에, APE1/APEX1 Asp148Glu와 ERCC1 Arg280His 다형성은 암발생과 무관한 것으로 보고하였다. 하지만 BER 유전자 ADPRT Val762Ala, MBD4 Glu364lys, LIG3 A3704G와 XRCC1 T-77C의 변이는 식도 편평상피세포암 발생과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려졌다[20]. Li 등[21]은 ADPRT, XRCC1, APE1의 다형성과 두경부 편평상피세포암 (SCCHN)과의 연관성 연구에서 XRCC1 Arg399Gln 또는 APE Asp148Glu 다형성은 편평상피세포암과 연관성이 부족하지만, ADPRT Ala762Val 다형성이 암발생에 중요한 역할을 하는 것으로 보고하였다. 또한 XPD/ERCC2의 다형성은 SCCHN의 발생 위험성을 증가시키지만 통계학적 유의성은 발견되지 않았다[22,23]. 최근 악성 흑색종과 NER 유전자 다형성의 연구에서 APE1 Asp/Asp 유전자형과 비교했을 때 APE1 Asp/Glu 유전자형에서 피부 흑색종의 발생 위험도가 유의성 있게 감소되었다[24].

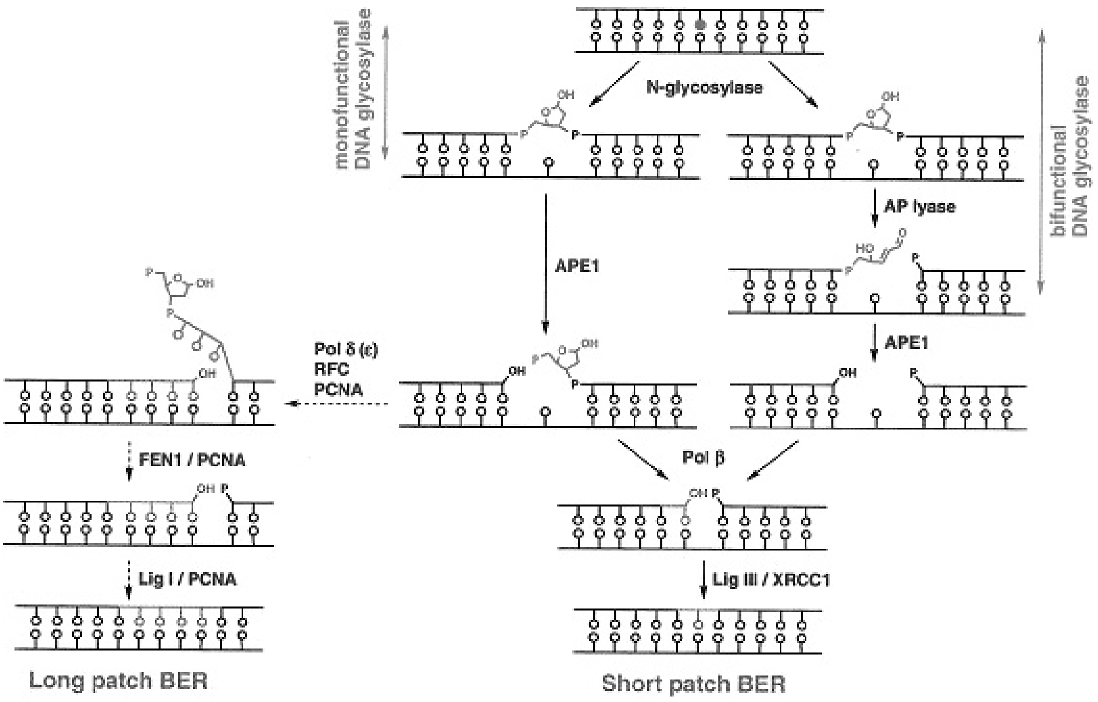

Fig. 2. Schematic representation of base-excision repair (by Ide H and Kotera M)[16]
: Most DNA glycosylases involved in the repair of oxidative base damage have an associated AP lyase activity and catalyze either β-elimination of the 3' phosphodiester bond or β, δ -elimination of the 3' and 5' phosphodiester bonds. These enzymes are called bifunctional DNA glycosylases *(i.e., N-glycosylase/AP lyase)*. Another class of DNA glycosylases has no associated AP lyase activity and is called monofunctional DNA glycosylases *(i.e., N-glycosylase alone)*.

3. 뉴클레오티드 절단 수복 (Nucleotide-excision repair, NER)

NER에는 전반적인 유전자 병소에 작용하는 글로벌 유전체 수복(global genome repair, GG-NER) 방법과 활동성 유전자의 전사 부위에 작용하는 전사연관 수복(transcription coupled repair, TC-NER) 방법의 두 가지 경로가 있다. GG-NER과 TC-NER은 DNA 손상을 인지하는 첫 단계에서 차이가 나는데 GG-NER은 인지과정에 HHR23B와 centrin 2와 복합체를 형성하는 XPC(Xeroderma pigmentosum group C)가 반드시 필요하지만, TC-NER은 XPE, XPC, HR23B를 제외한 GG-NER에 필요한 모든 단백질을 필요로 하고, 손상부위에서 RNA 중합효소 II의 작용 지연과 연관되어 일어난다. TC-NER의 결손과 관련된 대표적인 질환으로 Cockayne 증후군 (CS)이 있는데 RNA 중합효소와 연관된 두 단백질 CSA와 CSB의 결함으로 발생한다[3,25]. CS 단백질은 중합효소 II 복합체를 일시적으로 손상부위에서 제거하고 전사가 일어나는 동안에 지연된 중합효소들의 진행에 중요한 역할을 한다.

NER은 다용도의 DNA 수복방법으로 자외선에 의한 가장 큰 손상인 싸이클로부탄 피리미딘 이배체(CPD)와 피리미딘 6-4 피리미돈 광생성물(6-4 PPs) 등과 같은 부피가 큰 DNA(bulky DNA) 병변을 수복할 수 있다. 일반적으로 NER은 DNA 손상의 인지, 손상부위에서 이중나선의 분리, 병소부위의 양쪽에서 단일사슬의 절제, 단일사슬의 DNA조각을 포함한 병소의 절단, 절단부위를 채우기 위한 DNA의 복제, 남은 단일사슬 닉(nick)을 연결하는 과정으로 이루어진다.

DNA 손상 인지는 NER의 첫 단계로 XPC 단백질에 의하여 시작된다. XPC는 HHR23B와 centrin 2와 함께 복합체를 형성하는데 DNA 손상 감지기 역할을 하고 NER 인자들의 이주를 촉진하는 역할을 한다[3]. XPC-HR23B는 손상 인지에 또 다른 중요한 단백질로 손상된 DNA에 부착되어 국소적으로 나선을 풀어주어 XPA 단백질이 결합할 수 있도록 하고 다른 수복 인자들이 손상부위로 모일 수 있도록 한다. XPC-HR23B는 GGR과정에만 필요하다. RNA 중합효소가 손상부위에서 지연되는 전사연관 수복 (TC-NER)의 경우 Pol II 복합체에 의해 나선이 풀리고 XPA가 XPC-HR23B와 무관하게 손상된 DNA에 부착된다.

XPA도 초기에 DNA 손상부위에 결합하여 손상을 검사하고 다른 NER 인자들을 모으는데 도움을 준다. XPA 단백질은 손상된 DNA에 친화력을 증강시키는 복제단백질 A(replication protein A, RPA)에 결합하고 이것은 NER의 필수적인 과정이다.

XPA결핍 환자에서 추출한 세포는 자외선에 대한 민감성이 증가하고 NER 활동성이 감소한다. 비생체 모델에서 XPA 단백질은 비손상 DNA보다 손상된 DNA에 더 강한 친화력을 보여 손상된 DNA는 수복과정의 다음 단계로 이행되지만 정상 DNA에서는 뉴클레오티드 절단 수복과정이 일어나지 않게 된다. XPE/DDB2 단백질도 DNA 손상부위에 친화력을 보이는데 자외선에 의한 광생성물을 특수하게 인지하는 중요한 역할을 한다[26].

손상부위 인지 후 손상부위에서 RPA와 전사인자 IIH (transcription factor IIH, TFIIH)의 작용에 의해 DNA 이중나선이 풀린다. XPA와 RPA 복합체는 TFIIH의 활동을 지원하고 손상부위 주위로 DNA 버블을 안정화시킨다. TFIIH는 최소 10개의 소단위로 구성된 다단백질 복합체로 기본적인 전사과정의 필수적인 요소로 알려져 있다. XPB와 XPD 단백질은 전사과정의 개시에 참여하는 TFIIH의 두 개 소단위로 알려져 있으며, XPB와 XPD 단백질은 각각 3'→5' 그리고 5'→3' 헬리카제 활동성을 가지고 있다. XPC-hHR23B와 TFIIH는 초기에 손상된 부위의 주위로 10개 미만의 DNA결합을 풀 수 있으며, XPA, RPA, XPG의 결합으로 25개 이하의 결합을 풀 수 있다[27]. XPA가 결합한 후 XPB와 XPD에 의해 DNA의 나선 구조가 풀리면 RPA와 XPG 두 개의 단백질이 결합할 수 있게 된다. RPA는 진핵세포의 중요한 단일사슬 DNA 결합 단백질로 분리된 두 가닥의 DNA에 결합하여 노출된 부위를 보호하고 고정하는 역할을 한다. 두 번째로 보충되는 단백질은 XPG로 이것은 특이적 뉴클레아제이다.

병소 부위의 인지와 경계 구분 후 절단과정이 일어나는데, 이 과정에는 XPG(3' 절단)와 ERCC1-XPF(5' 절단)가 작용한다. 절단과정은 비대칭적으로 일어나는데 XPG에 의한 3' 절단은 손상부위로부터 DNA 합성방향으로 진행되고 5-6개의 뉴클레오티드 정도 떨어진 부위에서 절단되지만, ERCC1/XPF에 의한 5' 절단은 DNA합성의 역방향으로 진행되고 15-24개 뉴클레오티드 정도 떨어진 부위에서 일어난다[28]. 절단과정은 거의 동시에 일어나지만 3' 절단이 5' 절단보다 빨리 일어나기 때문에 XPG절단은 ERCC1-XPF가 결핍돼도 일어나지만 ERCC1-XPF 절단은 XPG를 반드시 필요로 한다.

이후에 RFC, PCNA, DNA 중합효소 델타 또는 입실론이 ERCC1-XPF에 의해 절단된 3'-OH기에 결합하여 상보적인 사슬을 주형으로 새로운 DNA 합성이 시작되어 절단부위를 채우게 된다. 손상부위의 염기들과 TFIIH, XPA, XPG, ERCC1-XPF는 떨어져 나가고 마지막으로 닉(nick)은 DNA 리가제 I에 의해 채워진다(Fig. 3).

3.1. NER과 연관된 유전자 질환 및 두경부암과 연관된 NER 유전자

많은 인간 NER 단백질을 암호화하는 유전자는 Xeroderma pigmentosum(XP)과 같은 인간 DNA 수복과정 결손에 의해 발생하는 질환의 유전자적 상보성 연구에서 처음으로 발견되었다[3,26]. NER과 관련된 세 가지의 대표적인 유전성 증후군이 있는데, 심한 광과민증, 신경학적 결손, 심한 색소침착, 높은 피부암 발생, 발암성 증가 등의 증상을 동반하는 XP는 XPA-XPG의 7개 유전자 어디에서 변이가 일어나던지 발생가능하다. XP 이외에도 광과민성, 신경학적 문제, 조기노화, 안면과 사지의 이상, 난쟁이, 신경의 퇴행성변화에 의한 조기사망을 특징으로 하는 Cockayne 증후군 그리고 광과민증, 조기노화, 안면이상, 작은 신장, 어린선(ichthyosis), 황결핍으로 끊어지기 쉬운 모발을 특징으로 하는 trichothiodystrophy(TTD) 등이 NER결손과 관련된 대표적인 증후군으로 알려져 있다[3].

NER 유전자 XPA와 XPD는 흡연에 의해 형성되는 DNA 부가생성물을 제거하는 데 중요한 역할을 하므로 NER 다형성은 구강암과 전암병소에 대한 감수성과 관련이 있는 것으로 생각되었다. Bau 등[29]은 XPA와 XPD의 다형성과 구강암의 위험성의 연관성 연구에서 XPA와 XPD의 유전자형 다형성과 구강암 발생에 유의성 있는 연관성을 찾지 못했지만, 발암과정에 시너지 효과가 있다고 하였으며, 이러한 결과는 유전적 다형성이 환경적인 발암물질에 노출되어 변형된 것을 암시한다고 하였다. Wang 등[30]은 8개의 주요한 유전자 XPA, XPD, XPC, XPG, XPF, ERCC6, Rad23B, CCNH와 구강 전암병소 발생의 연관성 연구에서 이들의 유전자형의 다형성이 전암병소의 발생 위험성을 증가시키는 것으로 보고하였다.

4. 잘못된 결합 수복 (Mismatch repair, MMR)

잘못 결합된 염기쌍은 DNA의 복제, 이종중복부위(heteroduplex)와 불완전한 회문(palindrome)과 같은 이차구조의 형성 과정에서 발생될 수 있다. 또한 5-메틸씨토신이 우라실로 탈아미노화되는 과정에서 우라실 N-글리코실라제에 의해 인지와 제거가 되지 않으면 G:T의 잘못된 결합이 생길 수도 있다. 직접적인 수복과 절단 수복과정은 올바른 주형사슬과 잘못된 정보를 가지고 있는 사슬을 구분하는 기전이 없기 때문에 잘못 결합된 염기쌍을 교정할 수 없는데 이런 경우 MMR에 의해 해결될 수 있다. MMR은 DNA 손상의 몇 가지 형태수복, DNA복제와 재조합 동안 일어날 수 있는 염기들의 잘못된 부착이나 결손 그리고 삽입을 인지하고 수복하는 방법으로 손상부위에 잘못 삽입된 염기를 포함하여 더 많은 부위를 잘라내고 알맞은 뉴클레오티드를 재위치 시킴으로써 수복한다[31,32].

MMR은 long patch와 short patch 두 가지 방법이 있는데, long patch는 모든 종류의 잘못된 짝을 찾아내고 수복하는 방법으로 몇 킬로 염기의 길이만큼 잘라낼 수 있으며, short patch는 오직 유전체에 손상을 일으키는 특정한 잘못된 짝만을 찾아내고 수복하며 10여개의 뉴클레오티드 길이를 잘라낼 수 있다.

기본적으로 MMR은 새롭게 합성된 DNA에서 잘못된 결합을 찾아내고, 두 개의 잘못 짝지어진 염기 중에서 어떤 것이 다른지를 결정하고, 그 짝을 잘라내어서 오류를 바로 잡는 세 가지 과정으로 이루어져 있다.

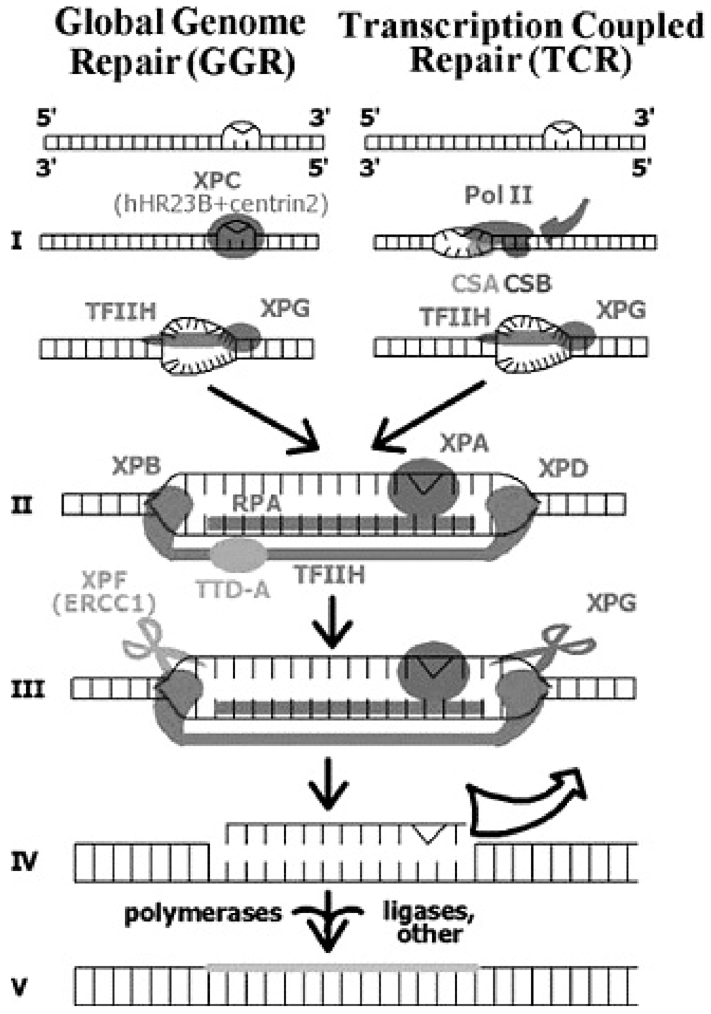

Fig. 3. Schematic representation of nucleotide-excision repair (by Leibeling D, et al)[25) : At first, the DNA damage is recognized (I), then demarcated (II), followed by strand incision at both sides of the DNA lesion (III). After that the DNA lesion containing oligonucleotide is removed (IV) and the gap is filled with a newly synthesized oligonucleotide using the complementary strand as a template (V).

4.1. E. coli에서의 MMR

MMR 과정에 대한 연구는 주로 E. coli MMR 과정이 생화학적, 유전학적으로 광범위하게 연구가 되어있어 인간 MMR을 이해하는 데 중요하다. E. coli에서의 MMR 과정에는 MutS, MutL, MutH, DNA 헬리카제 II(MutL/UvrD), 네가지의 엑소뉴클레아제(ExoI, ExoVII, ExoX, RecJ), 단일사슬 DNA 결합단백질(SSB), DNA 중합효소 III 홀로효소, DNA 리가제 등의 단백질이 작용한다[33)].

MutS는 염기-염기의 잘못된 결합과 뉴클레오티드의 작은 삽입/결손의 잘못된 결합을 인지하는 잘못된 결합 인지단백질로 알려져 있는데, MMR의 첫 번째 단계로 잘못된 결합부위에 동종이배체 MutS가 결합한다. 결과적으로 잘못된 결합에 대하여 반메틸화(hemimethylation)된 dGATC site 5' 또는 3' 말단이 위치되고 MutS, MutL, MutH, ATP의 작용에 의해 절단된다. 반메틸화된 dGATC 부위에서 MutH에 의하여 형성된 사슬 특이적 닉이 잘못 결합된 염기가 절단되는 시작점이 된다. MutL의 존재하에서 헬리카제 II(UvrD)에 의해 닉 부위로 부터 잘못된 결합부위로 이중나선구조가 풀리게 되어 단일사슬 DNA가 형성되고 단일사슬 DNA 결합단백질(SSB)에 의하여 뉴클레아제의 공격으로부터 보호된다[34)]. 잘못된 결합부위에 대한 사슬파손부위의 위치에 따라 Exol 또는 ExoX(3'→5' 엑소뉴클레아제), 또는 ExoVII 또는 RecJ(5'→3' 엑소뉴클레아제)에 의해 잘못된 결합부위 가까이 또는 약간 넘는 부위까지 닉 부위로부터 사슬을 절단한다. 발생된 단일사슬의 틈새는 DNA가 재합성되고 DNA 중합효소 III 홀로효소, SSB, DNA 리가제에 의하여 연결

된다[35].

E. coli MMR의 세 가지 특징은 수복과정이 새로 합성된 DNA 사슬에서 제한적으로 이루어지고, 닉 부위에서 잘못된 결합방향으로 5'→3' 또는 3'→5' 방향으로 진행되는 양방향성이라는 점, 염기-염기의 잘못된 결합과 작은 삽입/결손의 잘못된 결합을 포함한 다양한 기질 특이성을 가진다는 점이다.

4.2. 인간 세포에서의 MMR

인간세포에서의 MMR과 E. coli에서의 MMR은 아주 강한 유사성을 가지고 있어 고도로 보존된 생물학적 과정으로 알려져 있다. E. coli에 대한 동족체로 MutS, MutL, EXO1, RPA, proliferating cellular nuclear antigen(PCNA), DNA 중합효소 δ(pol δ), DNA 리가제 I이 알려져 있다(Table 1)[33].

hMSH2는 hMSH6 또는 hMSH3와 결합하여 각각 hMutSα 또는 hMutSβ를 형성하여 잘못된 결합을 인지하고 수복과정의 개시하는데 중요한 역할을 한다. hMutSα는 염기-염기의 잘못된 결합과 하나 또는 두 개 정도의 뉴클레오티드의 삽입/결손의 잘못된 결합을 인지하는 반면, hMutSβ는 큰 삽입/결손의 잘못된 결합을 인지한다. hMLH1은 hPMS2, hPMS1, 또는 hMLH3와 결합하여 각각 hMutLα, hMutLβ, 또는 hMutLγ를 형성한다 hMutLα는 ATPase 활동성을 가지고 잘못된 결합으로 야기된 절단의 중지를 조절하며, EXO1이 참여하는 3' 닉 방향 MMR에 중요한 역할을 하는 PCNA/replication factor C(RFC) 의존성 엔도뉴클레아제 활동성을 가진 것으로 알려져 있다[36]. hMutLγ은 체세포 분열에 중요한 역할을 한다. 하지만 hMutβ의 기능은 아직 알려져 있지 않다.

PCNA는 MSH2와 MLH1과 결합하여 MMR의 개시와 DNA 재합성에 중요한 역할을 하고 MutSα와 MutSβ를 새로 복제된 DNA의 잘못된 염기쌍에 MutSα와 MutSβ의 국소화에 도움을 주는 것으로 알려져 있다. EXO1은 MSH2와 MLH1과 결합하여 MutSα또는 MutSβ와 RPA의 존재 하에서 5' 방향의 잘못된 결합을 절단한다. PCNA와 RFC에 의하여 활성화되는 MutLα 엔도뉴클레아제가 3' 닉 방향 절단을 촉진한다.

RPA는 MMR의 모든 단계에 관여하는데 MutSα 와 MutLα 전에 닉이 형성된 이종중복부위 DNA에 결합하고, 잘못된 결합에 의해 유도된 절단을 촉진하고, 절단에 의하여 형성된 ssDNA의 말단을 보호하며, DNA 재합성을 촉진한다[33].

DNA 헬리카제는 DNA 이중사슬을 분리하고, 다른 효소의 공격으로부터 남아있는 단일사슬 틈새를 보호한다. DNA 중합효소 δ에 의해 DNA 재합성이 이루어지고 DNA 리가제 I에 의해 연결된다(Fig. 4).

4.3. 두경부암과 연관된 MMR 유전자

MMR결핍은 자연발생적 변이의 빈도를 높이고 증가된 마이크로부수체 불안정(microsatellite instability, MSI)을 야기한다. 몇몇 MMR 유전자 변이는 선천성 비폴립형 결장암(hereditary nonpolyposis colorectal cancers, HNPCC) 발생 원인이 되는데, 종양억제 유전자로 분류되는 MutS와 MutL 동족체가 유전자의 암호화 과정의 변이에 상당히 기여하는 것으로 알려져 있다[34].

Wang 등[37]은 hMLH1과 hMSH2의 프로모터 메틸화, 엑손변이, 유전자 발현 등을 조사하여 두 유전자의 불활성화가 두경부 편평상피세포암의 발생에 큰 영향을 미치지 않는다고 하였지만, Castrilli 등[38]은 hMSH2, hMLH1, hMSH3, hPMS1, hPMS2, GTBP/hMSH6 등 6개의 MMR 유전자와 타액선 종양의 발생에 대한 연구에서 다형성 선종에 비해 악성 종양에서 hMSH2, hMLH1의 발현이 유의성 있게 증가한 반면, Warthin 종양에서

Table 1. MMR Components and Their Functions

E. coli	Human	Function
MutS	hMutSα (MSH2-MSH6)	DNA mismatch/damage recognition
	hMutSβ (MSH2-MSH3)	
MutL	hMutLα (MLH1-PMS2)	Molecular matchmaker;endonuclease,termination of mismatch-provoked excision
	hMutLβ (MLH1-PMS1)	
	hMutLγ (MLH1-MLH3)	
MutH	?	Strand discrimination
UvrD	?	DNA helicase
ExoI, ExoII, ExoX, RecJ	Exol	DNA excision; mismatch excision
Pol III holoenzyme	Pol δ	DNA re-synthesis
	PCNA	Initiation of MMR, DNA re-synthesis
SSB	RPA	ssDNA binding/protection:stimulating mismatch excision; termination of DNA excision:promoting DNA resynthesis
	HMGB1	Mismatch-provoked excision
	RFC	PCNA loading;3' nick-directed repair;activation of MutLa endonuclease
DNA Ligase	DNA ligase I	Nick ligation

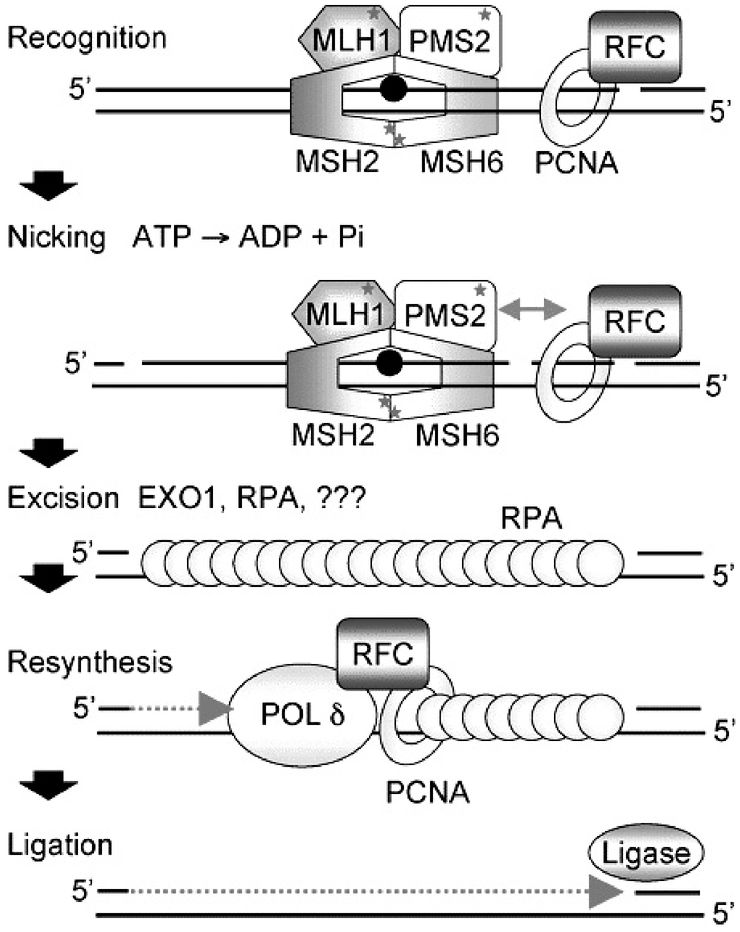

Fig. 4. Scheme for 3' directed eukaryotic MMR. (by Hsieh P and Yamane K)[24)]
: Recognition of a mismatch by MutSa (MSH2-MSH6) or MutSb (MSH2-MSH3, not shown) and MutLa (MLH1-PMS2) results in the formation of a ternary complex whose protein-protein and protein-DNA interactions are modulated by ATP/ADP cofactors bound by MutSa and MutLa (indicated by *). PCNA may play an important role in the recruitment of MMR proteins to the vicinity of the replication fork via a PIP motif on MSH6 and MSH3. Nicking by the endonuclease function of PMS2 stimulated by ATP, PCNA, and RFC and relevant protein-protein interactions (indicated by arrow) may establish strand discrimination targeting repair to the newly synthesized strand. Excision by EXO1 and possibly other as yet unidentified exonucleases leads to the formation of an RPA-coated single-strand gap. Resynthesis by replicative pol δ and ligation restore the integrity of the duplex.

는 hMSH2와 hMLH1의 발현을 관찰할 수 없었다고 보고하였다. Nunn 등[39)]은 35명의 두경부 편평상피세포암환자와 정상인을 대상으로 한 연구에서 96%의 편평상피세포암 환자에서 hMSH2와 hMCH1 유전자의 발현이 감소되었고, hMLH1과 hMSH3 유전자의 대립형질 불안정성이 두경부 편평상피세포암의 원인이 될 수 있다고 하였다. Saito 등[40)]은 37.5%의 치조연조직육종에서 낮은 마이크로부수체 불안정성을 보이고, 면역조직학적 연구에서 3명중 2명의 환자에서 hMSH2 또는 hMLH1의 발현이 감소됨을 관찰하고 hMSH2/hMLH1의 불활성이 치조연조직육종에서 종양억제유전자의 변이형성에 중요한 역할을 한다고 하였다.

Ⅲ. 요 약

DNA 손상 치유 유전자 연구를 기초로 한 임상적 접근이 새로운 치료방법으로 떠오르고 있다. 많은 연구들이 중요한 DNA 수복유전자의 다형성을 찾아내어 각각의 단백질의 활동성에 대한 영향을 알아내고 특정한 치료법을 찾아내고 임상적 적용을 시도하고 결과를 평가하였다. 그 결과 암 치료에서 정상 세포와 암세포에서 DNA 수복 유전자의 발현 분석은 화학요법이나 방사선 치료에서 개인맞춤형 치료법을 가능하게 하고 있다. 예를 들어, NER이 결핍된 종양은 cisplatin 치료에 민감성을 나타내고, MMR 결핍세포는 알킬화 화학요법 약제에 높

은 내성을 나타낸다. 선천성 비폴립성 결장암과 같은 MMR 결손종양 또한 알킬화 화학요법 약제에 의한 치료에 내성을 가진다. 신경교종(glioma)에서 MGMT 유전자 프로모터가 흔히 메틸화되는데 이것은 유전자 발현이 억제되고 알킬화 화학요법제에 대한 반응성을 증가시킨다.

향후 구강악안면외과 영역에서도 구강암의 발생의 위험성을 증가시킬 수 있는 더 많은 DNA 수복 유전자의 다형성을 발굴하고 임상적으로 개인맞춤형 치료법을 개발하고 적용할 수 있는 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Wood RD, Mitchell M, Sgouros J, Lindahl T: Human DNA repair genes. Science 2001;291:1284-1289.
2. Lodish H, Berk A, Matsudaira P: Molecular Biology of the Cell 5th edi. P963, New York, WH Freeman. 2004.
3. Boer J, Hoeijmakers JH: Nucleotide excision repair and human syndromes. Carcinogenesis. 2000;21:453-460.
4. Yu Z, Chen J, Ford BN, et al: Human DNA repair systems: an overview. Environ Mol Mutagen. 1999;33:3-20.
5. Sancar A: Structure and function of DNA photolyase and cryptochrome blue-light photoreceptors. Chem Rev. 2003;103:2203-2237.
6. Foote RS, Mitra S, Pal BC: Demethylation of O^6-methylguanine in a synthetic DNA polymer by an inducible activity in Escherichia coli. Biochem Biophys Res Commun. 1980;97:654-659.
7. Gerson SL: Clinical relevance of MGMT in the treatment of cancer, J Clin Oncol 2002;20:2388-2399.
8. Sawhney M, Rohatgi N, Kaur J, et al: MGMT expression in oral precancerous and cancerous lesions: correlation with progression, nodal metastasis and poor prognosis. Oral Oncol. 2007;43:515-522.
9. Wang L, Zhu D, Zhang C, Mao X, et al: Mutations of O^6-methylguanine-DNA methyltransferase gene in esophageal cancer tissues from Northern China. Int J Cancer. 1997;71:719-723.
10. Rodriguez MJ, Acha A, Ruesga MT, et al: Loss of expression of DNA repair enzyme MGMT in oral leukoplakia and early oral squamous cell carcinoma. A prognostic tool? Cancer Lett. 2007;245:263-268.
11. Kato K, Hara A, Kuno TJ, et al: Aberrant promoter hypermethylation of p16 and MGMT genes in oral squamous cell carcinomas and the surrounding normal mucosa. Cancer Res Clin Oncol. 2006;132:735-743.
12. Kulkarni V, Saranath D: Concurrent hypermethylation of multiple regulatory genes in chewing tobacco associated oral squamous cell carcinomas and adjacent normal tissues. Oral Oncol. 2004;40:145-153.
13. Nagane M, Asai A, Shibui S, Nomura K, Kuchino Y: Application of antisense ribonucleic acid complementary to O^6-methylguanine-deoxyribonucleic acid methyltransferase messenger ribonucleic acid for therapy of malignant gliomas. Neurosurgery 1997;41:434-440.
14. Memisoglu A, Samson L: Base excision repair in yeast and mammals. Mutation Res 2000;451:39-51.
15. Barnes DE, Lindahl T: Repair and genetic consequences of endogenous DNA base damage in mammalian cells. Annu Rev Genet 2004;38:445-476.
16. Ide H, Kotera M: Human DNA glycosylases involved in the repair of oxidatively damaged DNA. Biol Pharm Bull 2004;27:480-485.
17. Matsumoto Y, Kim K: Excision of deoxyribose phosphate residues by DNA polymerase beta during DNA repair. Science. 1995;269:699-702.
18. Frosina G, Fortini P, Rossi O, et al: Two pathways for base excision repair in mammalian cells. J Biol Chem 1996;271:9573-9578.
19. Hung RJ, Hall J, Brennan P, Boffetta P: Genetic polymorphisms in the base excision repair pathway and cancer risk: a HuGE review. Am J Epidemiol. 2005; 162:925-942.
20. Hao B, Wang H, Zhou K, et al: Identification of genetic variants in base excision repair pathway and their associations with risk of esophageal squamous cell carcinoma. Cancer Res 2004;64:4378-4384.
21. Li C, Hu Z, Lu J, et al: Genetic polymorphisms in DNA base-excision repair genes ADPRT, XRCC1, and APE1 and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. Cancer 2007;110:867-875.
22. Sturgis EM, Castillo EJ, Li L, et al: XPD/ERCC2 EXON 8 Polymorphisms: rarity and lack of significance in risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. Oral Oncol 2002;38:475-477.
23. Sturgis EM, Zheng R, Li L, et al: XPD/ERCC2 polymorphisms and risk of head and neck cancer: a case-control analysis. Carcinogenesis 2000;21(12):2219-2223.
24. Li C, Liu Z, Wang LE, Strom SS: Genetic variants of the ADPRT, XRCC1 and APE1 genes and risk of cutaneous melanoma. Carcinogenesis. 2006;27:1894-1901.
25. Leibeling D, Laspe P, Emmert S: Nucleotide excision repair and cancer. J Mol Histol. 2006;37:225-238.
26. Kulaksiz G, Reardon JT, Sancar A: Xeroderma pigmentosum complementation group E protein (XPE/DDB2): purification of various complexes of XPE and analyses of their damaged DNA binding and putative DNA repair properties. Mol Cell Biol. 2005;25:9784-9792.
27. Evans E, Moggs JG, Hwang JR, et al: Mechanism of open complex and dual incision formation by human nucleotide excision repair factors. EMBO J. 1997; 16:6559-6573.
28. Emmert S, Schneider TD, Khan SG, Kraemer KH: The human XPG gene: gene architecture, alternative splicing and single nucleotide polymorphisms. Nucleic Acids Res. 2001;29:1443-1452.
29. Bau DT, Tsai MH, Huang CY, et al: Relationship between polymorphisms of nucleotide excision repair genes and oral cancer risk in Taiwan: evidence for modification of smoking habit. Chin J Physiol 2007;50:294-300.
30. Wang Y, Spitz MR, Lee JJ: Nucleotide excision repair pathway genes and oral premalignant lesions. Clin Cancer Res 2007;13:3753-3758.
31. Hsieh P, Yamane K: DNA mismatch repair: Molecular mechanism, cancer, and ageing. Mech Ageing Dev 2008; in press.
32. Aquilina G, Bignami M: Mismatch repair in correction of replication errors and processing of DNA damage. J Cell Physiol 187:145-154.
33. Li GM: Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. Cell Res. 2008; 18:85-98.
34. Ramilo C, Gu L, Guo S, et al: Partial reconstitution of human DNA mismatch repair in vitro: characterization of the role of human replication protein A. Mol Cell Biol 2002;22:2037-2046.
35. Modrich P, Lahue R: Mismatch repair in replication fidelity, genetic recombination, and cancer biology. Annu Rev Biochem 1996;65:101-133.
36. Kadyrov FA, Dzantiev L, Constantin N, Modrich P: Endonucleolytic function of MutLalpha in human mismatch repair. Cell 2006;126(2):297-308.
37. Wang Y, Irish J, MacMillan C: High frequency of microsatellite instability in young patients with head-and-neck squamous-cell carcinoma: lack of involvement of the mismatch repair genes hMLH1 AND hMSH2. Int J Cancer. 2001;93:353-60.
48. Castrilli G, Fabiano A, La Torre G, et al: Expression of hMSH2 and hMLH1 proteins of the human DNA mismatch repair system in salivary gland tumors. J Oral Pathol Med 2002;31:234-238.
39. Nunn J, Nagini S, Risk JM, et al: Allelic imbalance at the DNA mismatch repair loci, hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2 and hMSH3, in squamous cell carcinoma of the head and neck. Oral Oncol 2003;39:115-29.
40. Saito T, Oda Y, Kawaguchi K, et al: Possible association between tumor-suppressor gene mutations and hMSH2/hMLH1 inactivation in alveolar soft part sarcoma. Hum Pathol 2003;34:841-849.