

위암 조직에서 *p53*과 *K-ras* 유전자 돌연변이와 *Helicobacter pylori* 감염과 *IL-1B* 유전자 다형성 사이의 관련성 연구

윤효영, 송영진, 박주승, 현태선, 윤세진, 김용대, 강종원, 김 힌

충북대학교 의과대학 외과학교실, 내과학교실, 예방의학교실, 을지대학교 의과대학 외과학교실, 충북대학교 생활과학대학 식품영양학과

Interactions between mutations of *p53* and *K-ras* genes in stomach cancer tissues, *Helicobacter pylori* infection, and *IL-1B* polymorphism

Hyo-Yung Yun, Young-Jin Song, Joo-Seung Park, Tai-Sun Hyun,
Sei-Jin Youn, Yong-Dae Kim, Jong-Won Kang, Heon Kim

Departments of Surgery, Departments of Internal Medicine and Departments of Preventive Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University; Department of Surgery, Eulji University, School of Medicine, Department of Food and Nutrition, Chungbuk National University



대한임상건강증진학회지 제5권 제1호 2005년 3월 별책

Korean Journal of Health Promotion and Disease Prevention Vol. 5, No. 1, Mar 2005

원저

위암 조직에서 *p53*과 *K-ras* 유전자 돌연변이와 *Helicobacter pylori* 감염과 *IL-1B* 유전자 다형성 사이의 관련성 연구윤효영¹, 송영진¹, 박주승², 현대선³, 윤세진⁴, 김용대⁵, 강종원⁵, 김 현⁵충북대학교 의과대학 외과학교실¹, 내과학교실⁴, 예방의학교실⁵, 을지대학교 의과대학 외과학교실², 충북대학교 생활과학대학 식품영양학과

요약

연구배경	<i>Helicobacter pylori</i> 감염은 우리나라의 암 중 가장 많은 위암의 원인으로 주목받고 있는데, interleukin-1 유전자 다형성이 <i>H. pylori</i> 의 위암 발생 효과에 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있다. <i>H. pylori</i> 는 산화적 손상을 통하여 유전자 돌연변이를 유발하게 된다. 본 연구의 목표는, 흡연, <i>IL-1B</i> 유전자 다형성, <i>H. pylori</i> 감염이 위암 발생 위험도에 미치는 영향을 평가하고, 흡연, <i>IL-1B</i> 유전자 다형성, 위암 조직의 <i>p53</i> 과 <i>K-ras</i> 유전자 돌연변이 등과 <i>H. pylori</i> 감염 여부와의 관련성을 파악하는 것이다.
방법	위암 환자 110명과 대조군 220명에 대하여 흡연력과 <i>IL-1B</i> -511 유전자형, 그리고 항- <i>H. pylori</i> IgG 항체 존재 여부를 검사하였다. 아울러 환자군의 위암 조직에서 DNA를 추출하고, <i>p53</i> 과 <i>K-ras</i> 유전자의 염기서열을 분석하여 돌연변이 여부를 확인하였다. 흡연력과 <i>IL-1B</i> 유전자 다형성, 그리고 <i>H. pylori</i> 감염력, <i>p53</i> 과 <i>K-ras</i> 유전자 돌연변이 등 사이의 관련성 여부를 통계적으로 검증하였다.
결과	환자군의 흡연율이 대조군보다 높았으나 누적흡연량은 양군 간에 차이가 없었다. <i>H. pylori</i> 에 대한 IgG 항체 양성률과 <i>IL-1B</i> 유전자 다형성 분포에서 환자군과 대조군 사이에 유의한 차이가 없었다. 환자군과 대조군 각각에서, 흡연습관과 <i>IL-1B</i> 유전자 다형성이 <i>H. pylori</i> 항체 존재여부와 유의한 관련성을 보이지 않았다. 환자군에 대하여 흡연습관, <i>H. pylori</i> 에 대한 IgG 항체 존재여부, <i>IL-1B</i> 유전자 다형성 등과, 위암조직의 <i>p53</i> 과 <i>K-ras</i> 유전자 돌연변이 사이에 통계적으로 유의한 관련성이 있는지를 검사하였으나, 이 중 어느 것도 유의하지 않았다.
결론	흡연은 위암 발생의 위험도를 높이지만, <i>IL-1B</i> 유전자 다형성과 <i>H. pylori</i> 감염력은 위암 위험도를 뚜렷하게 증가시키지 않는 것으로 판단된다. 흡연이나 <i>IL-1B</i> -511 C 대립유전자가 <i>H. pylori</i> 감염 가능성을 높이지 않으며, <i>H. pylori</i> 가 위 조직의 <i>p53</i> 이나 <i>K-ras</i> 유전자 돌연변이를 유발함으로써 위암을 발생시키는 경우도 많지 않을 것으로 판단된다. 그러나 본 연구의 결과로는 CagA(+) <i>H. pylori</i> 감염이 <i>IL-1B</i> 유전자 다형성이나 암 조직의 <i>p53</i> 유전자 돌연변이와 관련되어 있을 가능성을 배제할 수 없다.
중심 단어	위암, 흡연, <i>Helicobacter pylori</i> , <i>IL-1B</i> , <i>p53</i> , <i>K-ras</i>

대한임상건강증진학회지 2005;1:37~44

서론

위암은 우리나라에서 가장 많이 발생하는 암이며, 우리나라

- 이 논문은 2004년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음
- 교신저자 : 김 현
- 주 소 : 충북 청주시 흥덕구 개신동 충북대학교 의과대학 예방의학교실
- 전 화 : 043-261-2864 • E-mail : kimheon@pm.cbu.ac.kr
- 접수 일 : 2004년 12월 6일 • 채 택 일 : 2005년 3월 8일

의 위암 연령보정 발생률은 세계적으로도 높은 수준이다.¹⁾ 따라서, 위암의 원인을 규명하고 위암의 발생을 예방하는 것은 우리나라 국민보건에 지대한 영향을 미친다. 각종 식이습관과 더불어 위암의 원인으로 주목받고 있는 것이 *Helicobacter pylori* 감염이다.²⁾ *H. pylori*에 감염되면 위 점막에 염증이 생기는데, antrum에 생긴 위염은 주로 과도한 위산분비와 관련되어 있지만, 위산을 분비하는 체부(corpus)에 위염이 생기면 위산의 분

비가 저하되어 위축성 위염을 유발하고, 위암이 발생할 위험이 증가하는 것으로 알려져 있다.³⁾ 위축성 위염은 *H. pylori*가 자라기에 좋지 않은 환경이므로, *H. pylori* 감염이 사라진 뒤 수십 년이 지난 후에 위암이 발생하는 경우도 있다.

개인의 식이나 유전적 요인도 *H. pylori* 감염에 의한 염증이 나 면역에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. El-Omar 등⁴⁾은 interleukin-1(이하 IL-1) 유전자 중에서 pro-inflammatory cytokine으로서 강력한 위산 분비 억제제인 IL-1β의 생산을 증가시키는 유전자형이, *H. pylori*와 관련된 저염산증(hypochlorhydria)과 위암에 밀접한 관련이 있음을 보고하였다. 이 연구 결과에 따르면, IL-1B 유전자형에 따라서 위액 분비 양상이 변화하게 되는데, *H. pylori* 감염이 있는 경우에 위암이 잘 생기므로, *H. pylori* 감염이 위암 발생에 미치는 효과는 IL-1B 유전자형에 따라 달라진다. 그러므로 *H. pylori* 감염은 IL-1B의 특정 유전자형에서 위암과 관련되어 있을 가능성이 있다. 일반적인 유전자 다형성 분포처럼 IL-1B 유전자 다형성 분포도 인종과 국가에 따라서 차이를 보일 것으로 예상되므로, 다른 인종을 대상으로 시행된 연구 결과를 한국인에게 그대로 적용할 수 없다. 그러므로 한국인에서 IL-1B 유전자 다형성이 위암 발생에 미치는 영향을 평가하기 위해서는 한국인을 대상으로 하는 역학적 연구가 이루어져야 한다.

*H. pylori*에 감염되면 산소유리기(reactive oxygen species)를 생성하여 위 조직에 산화적 손상(oxidative stress)을 가하게 되고 그 결과 8-hydroxydeoxyguanosine과 같은 DNA 손상이 유도되어 유전자 돌연변이를 유발하게 된다.⁵⁾ 그러나, 아직까지 *H. pylori* 감염과 관련된 유전자 돌연변이에 대한 연구는 아직까지 소수에 불과하다. 특히, IL-1B 유전자형과 *H. pylori* 감염, 그리고 위암 조직의 유전자 돌연변이 등의 인과관계에 대한 종합적인 연구는 국내에서 아직까지 거의 보고된 바가 없다.

본 연구의 목표는, 흡연, IL-1B 유전자 다형성, *H. pylori* 감염이 위암 발생 위험도에 미치는 영향을 평가하고, 흡연, IL-1B 유전자 다형성, 위암 조직의 p53과 K-ras 유전자 돌연변이 등과 *H. pylori* 감염 여부와의 관련성을 파악하는 것이다.

방법

1. 연구 대상

2000년 1월 1일부터 2003년 12월 31일 사이에 충북대학교병원이나 을지대학교병원에서 새롭게 위암으로 진단받은 사람으로서, 치료목적으로 수술을 받아 위암 조직을 확보한 사람을 잠정적 환자군으로 하였다. 이들 중에서 연구의 목적을 설명하였을 때, 연구에 참여하는 것에 동의한 사람으로서, 의사소통에 지장이 없는 사람을 최종적인 환자군으로 하였다. 이렇게 모집한 환자군은 108명으로서 남자가 70명이고 여자는 40명이었다. 한편, 충북대학교병원에서 암이 아닌 다른 질환으로 진단받은 사람 중에서 환자군과 성은 같고, 연령은 3세 이내로 비슷한 사람을 잠정적 대조군으로 하였다. 이들 중에서 연구에 참여하는 것에 동의하고, 혈액을 제공한 사람을 환자군과 1:2로 짝지어 최종적인 대조군으로 하였다. 대조군은 모두 216명으로, 이 가운데 남자가 140명이고 여자가 80명이었다.

2. 설문조사

숙련된 면접 조사원이 구조화된 설문지를 이용하여 환자군과 대조군에 대하여 직접 면접조사를 실시하였다. 설문지에는 인적사항 및 인구학적 요인, 흡연력, 음주력 등에 대한 질문이 포함되었다.

3. IL-1B의 유전적 다형성 분석

환자군과 대조군의 혈액을 EDTA 튜브에 5 ml 정도 채취하여 백혈구층(buffy coat)을 분리하였다. 냉동 보관한 백혈구층에 proteinase K를 가하여 단백질을 소화하고, Promega Wizard DNA Purification Kit(Promega, USA)를 이용하여 고분자량 DNA를 추출하였다.

이 DNA 100 ng을 주형으로 하고, 시발체와 dNTP(200 μM), 그리고, MgCl₂, Taq polymerase 2.5 unit 등을 넣어 최종 반응액 25 μl를 만든 후 DNA thermal cycler(Perkin-Elmer Cetus, UK)로 30-40회 증폭하였다. 이때 사용한 시발체는 5'-GCC TGA ACC CTG CAT ACC GT-3'와 5'-GCC AAT AGC CCT CCC TGT CT-3'이다. 증폭된 산물 10 μl에 물 7 μl, AvaI 10 unit, 그리고 10X 완충액 2 μl를 가하고 37℃에서 10시간이상 반응한 다음, 15% PAGE에서 200V로 30분 정도 전개하고 ethidium bromide로 염색한 후 자외선 아래에서 관찰하였다. 155 bp의 band가 88 bp와 67 bp로 절단되면 C allele로, 그렇지 않으면 T allele로 판독하였다.

4. *H. pylori* 감염력 조사

환자군과 대조군의 혈액에서 혈장을 분리하고, Pyloriset EIA-G III(Orion Diagnostica, Finland) 키트를 이용하여 *H. pylori*에 대한 IgG 항체가 존재하는지를 조사하였다.

5. 위암 조직의 p53 및 K-ras 유전자 변이 양성 분석

수술시에 적출한 위암 조직은 즉시 액체 질소에 담가서 보관하였다. 이 조직을 polytron homogenizer로 균질화하고, TRIzol 용액(Invitrogen Life Technologies, USA)을 이용하여 RNA를 추출하였다. 역전사효소를 이용하여 p53과 K-ras cDNA를 만들고 이 cDNA를 주형으로 하고, 10X PCR buffer, 25 mM MgCl₂, dNTP, primer, ExTaq(Promega) 등을 섞은 후 95°C에서 30 초와 72°C에서 1 분의 주기를 40회 반복하는 PCR을 시행하였다. p53 cDNA의 +2부터 +810까지의 부분을 증폭하기 위해서, 5'-TCT AGA GCC ACC GTC CAG GGA G-3'과 5'-AAC CTC AGG CGG CTC ATA GGG CA-3'의 시발체를 사용하였으며, +443부터 +1317까지의 부분을 증폭하기 위해서는 5'-ACC AGG GCA GCT ACG GTT TCC GT-3'와 5'-TCA GTC TGA ATC AGG CCC TTC TGT-3'를 사용하였다. Ki-ras 유전자의 1 번과 2 번 exon을 동시에 증폭하기 위해서는 5'-GAC TGA ATA TAA ACG TGT GGT AG-3'와 5'-ACT GGT CCC TCA TTG CAC TG-3'의 시발체를 사용하였다. 증폭된 p53과 K-ras exon 부위를 PCR purification kits(Boehringer Mannheim, USA)를 이용하여 남아 있는 primer를 제거하고, 염기서열을 분석하여 돌연변이 여부를 확인하였다. p53은 모든 exon에 대하여 돌연변이 여부를 조사하였으며, K-ras는 codon 12, 61, 62에 대하여 중점적으로 조사하였다. 염기서열 분석에는 ABI PRISM 3100 Avant Genetic Analyzer(Applied Biosystems, USA)를 사용하였다.

6. 통계 분석

평생 20개비 이상의 담배를 피운 적이 있는 경우를 흡연한 것으로 간주하였다. 환자군과 대조군 사이에서 흡연 여부, *H. pylori* 감염력, IL-1B 유전자 다형성 등에 차이가 있는지를 카이 제곱검정을 이용하여 통계적으로 검사하였다. 환자의 위암 조직의 p53 또는 K-ras 유전자 돌연변이 여부가 흡연력, *H. pylori* 감염력, IL-1B -511 유전자 다형성 따라 차이가 있는지에 대해서 분할표를 만들고 통계적 유의성을 검정하였다. 대응비와 그

95% 신뢰구간은 multiple logistic model을 이용하여 성별과 연령을 보정한 값을 사용하였다.

결과

환자군 중에서 과거에 흡연하였거나 현재 흡연하는 사람의 비율이 63.6%로서 대조군의 52.3%에 비하여 유의하게 높았다. 그러나 누적흡연량은 양군간에 차이가 없었다(표 1).

Table 1. Characteristics of the study subjects

Variable	Cases	Controls	OR* (95% CI [†])	p-value
Sex, n (%)				
Male	70 (63.6)	140 (63.6)		0.989 [‡]
Female	40 (36.4)	80 (36.4)	1.00 (0.62 - 1.62)	
Age, mean ± s.d.	59.8 ± 11.2	59.67 ± 11.0		0.811
Smoking status, n(%)				
Never smoker	40 (36.4)	104 (47.3)	1.00	0.038 [‡]
Current or ex-smoker	70 (63.6)	116 (52.3)	1.74 (1.03 - 2.94)	
Pack-years, mean ± s.d.	17.0 ± 19.1	15.8 ± 19.7		0.719

*Odds ratio †Confidence interval

[‡], †Odds ratios and 95% confidence intervals were controlled for age and sex.

[‡] p-value was estimated using a multiple logistic regression model.

*H. pylori*에 대한 IgG 항체의 양성률은 환자군과 대조군 사이에 유의한 차이가 없었다(Table 2). 환자군과 대조군의 IL-1B 유전자 다형성 분포에서도 유의한 차이를 발견할 수 없었다(표 2).

Table 2. Distributions of anti-*H.pylori* IgG antibody and IL-1B -511 polymorphism in cases and controls

Variable	Number (%)		OR* (95% CI [†])	p-value [‡]
	Cases	Controls		
Anti- <i>H.pylori</i> IgG antibody				
Negative	55 (51.9)	51 (48.1)	1.00	
Positive	91 (46.9)	103 (53.1)	0.82 (0.51 - 1.32)	0.425
<i>IL-1B</i> polymorphism				
CC	30 (27.8)	52 (24.1)	1.00	
CT	62 (57.4)	122 (56.5)	0.88 (0.51 - 1.52)	0.648
TT	16 (14.8)	42 (19.4)	0.68 (0.32 - 1.42)	0.301
CC	30 (27.8)	52 (24.1)	1.00	
CT or TT	78 (72.2)	164 (75.9)	0.82(0.49-1.39)	0.470

*Odds ratio †Confidence interval

[‡], †Odds ratios and 95% confidence intervals were controlled for age and sex.

[‡] p-value was estimated using a multiple logistic regression model.

Table 3. Distributions of *H. pylori* infection according to the smoking habit and *IL-1B* -511 polymorphism in the study subjects

Variable	Cases			Controls		
	Anti- <i>H. pylori</i> IgG		p-value [‡]	Anti- <i>H. pylori</i> IgG		p-value [‡]
	Negative	Positive		Negative	Positive	
Smoking habit						
Never smoker	21 (38,2)	18 (35,3)	0,758	46 (50,5)	45 (43,7)	0,339
Current or ex-smoker	34 (61,8)	33 (64,7)		45 (49,5)	58 (56,3)	
<i>IL-1B</i> polymorphism						
CC	15 (27,3)	15 (30,0)	0,757	26 (29,2)	24 (23,5)	0,372
CT or TT	40 (72,7)	35 (70,0)		63 (70,8)	78 (55,3)	

*p-value was estimated by chi-square test.

Table 4. Distributions of *IL-1B* polymorphism according to the smoking habit in cases and controls

Smoking habit	<i>IL-1B</i> polymorphism	Number (%)		Odds ratio* (95% CI [†])	p-value [‡]
		Cases	Controls		
Non-smokers	CC	11 (27,5)	22 (22,0)	1,28	0,576
	CT or TT	29 (72,5)	78 (78,0)	(0,54 - 3,04)	
Smokers	CC	19 (27,9)	30 (25,9)	0,98	0,948
	CT or TT	49 (72,1)	86 (74,1)	(0,48 - 2,00)	

The odds ratio for non-smokers were not significantly different from that for smokers.

*Odds ratio

[†]Confidence interval

[‡]Odds ratio and 95% confidence interval was controlled for age and sex.

[§]p-value was estimated using a multiple logistic regression model.

흡연습관과 *IL-1B* 유전자 다형성이 *H. pylori* 항체 존재여부와 유의한 관련성이 있는지를 환자군과 대조군 각각에 대하여 조사한 결과, 양군 모두에서 어느 것도 유의한 관련성을 확인할 수 없었다(표 3).

대상자를 흡연력에 따라 나누어 *IL-1B* 유전자 다형성의 위암에 대한 교차비를 추정한 결과 비흡연자군에서는 1.28, 흡연자군에서는 0.98로 나타났으며, 두 값 모두 통계적으로 유의하지 않았다. 비흡연자와 흡연자의 교차비 사이에 유의한 차이를 발견할 수 없었다(표 4).

환자군에서 적출한 위암 조직 중의 *p53* 유전자와 *K-ras* 유전자의 돌연변이를 조사한 결과, 110 개의 위암 조직 가운데 31 개 (28,2%)에서 *p53* 돌연변이를, 그리고 102 개 중에서 5 개 (4,9%)에서 *K-ras* 돌연변이를 확인하였다(표 5, 표 6).

Table 5. Distributions smoking habit, anti-*H. pylori* IgG antibody, *IL-1B* polymorphism according to the *p53* gene mutation in gastric cancer cases.

	<i>p53</i> mutation, n(%)		Odds ratio* (95% CI [†])	p-value [‡]
	Negative	Positive		
Total cases	97(95,1)	5(4,9)		
Smoking habit				
Never smoker	28 (35,4)	12 (38,7)	1,00	
Current or ex-smoker	51 (64,6)	19 (61,3)	0,91 (0,38 - 2,17)	0,835
Anti-<i>H. pylori</i> IgG antibody				
Negative	41 (54,0)	14 (46,7)	1,00	
Positive	35 (46,0)	16 (53,3)	1,37 (0,58 - 3,24)	0,470
<i>IL-1B</i> polymorphism				
CC	21 (26,9)	9 (30,0)	1,00	
CT	47 (60,3)	15 (50,0)	0,68 (0,25 - 1,85)	0,454
TT	10 (12,8)	6 (20,0)	1,10 (0,28 - 4,29)	0,895
CC	21 (26,9)	9 (30,0)	1,00	
CT or TT	57 (73,1)	21 (80,0)	0,78 (0,30 - 2,02)	0,608

*Odds ratio [†]Confidence interval

[‡]Odds ratio and 95% confidence interval was controlled for age and sex.

[§]p-value was estimated using a multiple logistic regression model.

환자군에 대하여 흡연습관, *H. pylori*에 대한 IgG 항체 존재여부, *IL-1B* 유전자 다형성 등과 위암조직의 *p53* 돌연변이 사이에 통계적으로 유의한 관련성이 있는지를 검사하였으나, 이 중 어느 것도 유의하지 않았다(표 5).

K-ras 유전자 돌연변이 존재여부와 환자군의 흡연습관, *H. pylori*에 대한 IgG 항체 존재여부, *IL-1B* 유전자 다형성 사이의 관련성을 평가한 통계검정에서도 유의한 것은 아무 것도 없었다(표 6).

Table 6. Distributions smoking habit, anti-*H. pylori* IgG antibody, *IL-1B* polymorphism according to the *K-ras* gene mutation in gastric cancer cases

	K-ras mutation, n (%)		Odds ratio* (95% CI [†])	p-value [‡]
	Negative	Positive		
Total cases	97(95.1)	5(4.9)		
Smoking habit				
Never smoker	37 (38.1)	2 (40.0)	1.00	
Current or ex-smoker	60 (61.9)	3 (60.0)	0.89 (0.14 - 5.59)	0.891
Anti- <i>H. pylori</i> IgG antibody				
Negative	46 (49.5)	3 (60.0)	1.00	
Positive	47 (50.5)	2 (40.0)	0.65 (0.10 - 4.11)	0.642
<i>IL-1B</i> polymorphism				
CC	27 (28.1)	1 (25.0)	1.00	
CT	56 (58.3)	3 (75.0)	1.83 (0.16 - 21.07)	0.628
TT	13 (13.5)	0 (0.0)	-	-
CC	27 (28.1)	1 (25.0)	1.00	
CT or TT	69 (71.8)	3 (75.0)	1.50 (0.14 - 16.55)	0.742

Odds ratio [†]Confidence interval,[†]Odds ratio and 95% confidence interval was controlled for age and sex.[‡]p-value was estimated using a multiple logistic regression model.

고찰

위암은 그 발생 원인에 폭로되고 나서 적어도 20년 이상의 세월이 흐른 다음에 발생하기 때문에, *H. pylori* 감염 여부와 위암과의 관련성을 조사하는 역학적 연구에서는 현재의 *H. pylori* 감염 여부를 확인하는 방법보다는 *H. pylori*에 감염되었었는지를 판단하는 방법이 더 적합하다. 따라서, IgG ELISA 방법을 이용하여 *H. pylori* 감염 여부를 조사한 본 연구의 방법은 적절하다고 할 것이다.

흡연력이 위암 발생의 위험도를 높인다는 본 연구의 결과는 기존의 연구와 일치하는 것이다.^{6,7} 흡연은 특히 분문(cardia) 부위에 발생한 위암과 관련이 있는 것으로 보고되었다.⁶ 그러나 환자군과 대조군 사이에 누적흡연량에 차이가 없다는 본 연구의 결과는 누적흡연량 증가에 따라 위암 위험도가 증가한다는 연구결과⁷와 차이를 보였다. 이는 본 연구가 위암 조직을 얻을 수 있는 환자만을 대상으로 하여 대상자수가 적고, 위암을 발생부위에 따라 구분하여 분석하지 않았기 때문으로 생각된다.

El-Omar 등⁴)은 특정 *IL-1B* 유전자 다형성 유형에서 *IL-1β*의 분비가 증가되어 *H. pylori*에 의한 저염산증(hypochlorhydria)

과 위암의 발생 위험도가 증가한다고 보고하였다. 이것은 *IL-1β*가 위암 분비를 강력히 억제하는 염증에 관여하는 cytokine이라는 특성 때문이다. 여기에 관여하는 두 개의 유전자 다형성은 서로 거의 완벽하게 관련되어 있어서 하나의 유전자 다형성만을 조사하여도 일배체형(haplotype)을 확인할 수 있다.⁴) 따라서, 본 연구에서처럼, *IL-1B* -511 만의 유전자 다형성을 조사하는 것만으로도 *IL-1β*의 분비 정도를 평가하는데 어려움이 없다. 그러나 본 연구에서 *IL-1B* 유전자 다형성은 *H. pylori* 감염력이나 위암의 위험도와 유의한 상관관계를 보여주지 않았다. 또, 전체 대상자를 환자군과 대조군으로 나누어서 *IL-1B* 유전자 다형성과 *H. pylori* 감염력 사이의 관련성을 평가한 결과에서 어느 군에서나 유의한 결과를 나타내지 않았다(Table 3). *H. pylori* 종 가운데 특히 위암 위험도와 유의한 관련성을 보이는 것은 cytotoxin-associated gene product A(CagA)를 생산하는 것으로 알려져 있으며,⁸) 본 연구에서는 CagA 단백질에 대한 항체 존재여부를 검사하지 않았기 때문에 이러한 종의 차이가 본 연구와 다른 연구 사이의 연구결과 상의 차이를 만들어냈는지는 논하기 어렵다.

본 연구의 *H. pylori* 음성 대조군에서의 *IL-1B* -511 C 대립유전자의 빈도는 0.539, 그리고 *H. pylori* 양성 대조군에서의 빈도는 0.529로서, 일본인의 0.48과 0.52 9)에 비하여 약간 높은 수준이지만, 본 연구의 대조군에는 C 대립유전자의 빈도가 높은 만성위염 환자가 포함되어 있을 가능성이 높으므로, 실제적으로 일본인의 자료와 본 연구의 결과는 거의 차이가 없다고 볼 수 있다. 위암 환자군의 C 대립유전자 빈도는 0.565로서, 일본의 0.52에 비해서 약간 높으나 유의한 수준은 아닌 것으로 판단된다.

유전자 다형성과 위암의 관련성을 흡연력에 따라 나누어 비교한 결과, 흡연자와 비흡연자 모두에서 *IL-1B* 유전자 다형성의 위암에 대한 교차비가 유의하지 않은 것으로 나타났으며, 비흡연자와 흡연자의 교차비 사이에도 유의한 차이가 없었다. 위암 발생에 있어 흡연과 유전자 다형성이 상호작용하는가를 검증한 연구는 많지 않다. Cai 등¹⁰)은 GSTT1 유전자 다형성이 위암의 감수성과 관련되어 있으며, 담배에 의한 위암 유발기전에 관여할 것으로 보고하였고, Shen 등¹¹)은 과거 흡연자가 iNOS 유전자의 CT 혹은 TT 형을 가진 경우에는 장형(intestinal type) 위암의 위험도가 유의하게 증가한다고 보고하였다. 그러나 흡연이 위암 발생에 있어서 *IL-1B* 유전자 다형성과 상호작용하는지를 검증한 연구는 찾아보기 어려웠다.

위암조직에서 *H. pylori* 감염 여부와 p53 돌연변이와의 관련성에 대한 연구 결과는 거의 대부분이 *H. pylori* 감염이 있는 위암조직에서 p53 돌연변이 발생률이 약간 높은 듯하나 유의한 관련성을 나타내지는 않고 있다.^{12~15)} 본 연구의 결과도 이러한 기존의 보고와 일치한다. *H. pylori*에 대한 IgG 항체를 가지고 있는 위암환자(51 명) 가운데 p53 유전자 돌연변이가 있었던 16 명의 분율(31.4%)은, IgG 항체를 가지고 있지 않은 위암환자(55 명) 중의 p53 유전자 돌연변이 양성자(14명)의 분율(25.5%)에 비하여 약간 높은 값이지만 통계적으로 유의한 것은 아니었다. 전제적인 *H. pylori* 감염과 p53 돌연변이 사이에 유의한 관련성이 없었던 것에 비하여, CagA(+) *H. pylori*에 감염된 환자의 위암 조직에서는 p53 돌연변이 발생률이 유의하게 증가하는 결과를 나타냈다.^{16,17)} 본 연구에서는 *H. pylori*의 CagA 상태를 확인하지 못하였으므로, CagA(+) *H. pylori* 감염과 위암 조직의 p53 돌연변이 사이의 관련성을 확인할 수는 없었다. 그러나, *H. pylori* 감염이 없는 것으로 나타난 경우에도 25.5%에서 p53 암억제 유전자의 돌연변이가 있었고, 이 수치가, *H. pylori* 감염이 있었던 경우의 31.4%에 비하여 큰 차이를 보이지 않으며, 기존의 연구에서 CagA(+) *H. pylori* 감염된 위암 환자의 30% 정도에서만 p53 돌연변이가 나타나고 있고, 일본의 *H. pylori* 감염 사례 중 CagA(+) 경우가 전체의 50% 정도인 점 등을 종합적으로 감안할 때, p53 암억제 유전자의 돌연변이의 극히 일부만이 *H. pylori* 감염에 의한 것으로 예상된다. 한국인에서 CagA(+) *H. pylori* 감염이 p53 암억제 유전자 돌연변이에 미치는 영향을 정확하게 평가하기 위해서는 좀 더 많은 수의 위암 조직에 대하여 *H. pylori*의 CagA 상태와 p53 암억제 유전자의 돌연변이를 조사하는 연구가 이루어져야만 한다.

위암 조직의 K-ras 암유전자 돌연변이는 조사된 위암조직의 4.9%에서만 발견되었다. 우리나라와 일본의 위암환자의 암조직에서 K-ras나 H-ras의 돌연변이율은 대부분 10%를 넘지 않으며^{18~20)}, 본 연구의 결과도 이와 일치한다. 이러한 결과는 K-ras 돌연변이가 위암 발생에서 작용할 가능성을 배제할 수 없으나, 그 역할이 대단히 중요한 것이 아님을 시사하는 것이다. 특히 위암 초기에는 거의 ras 암유전자의 돌연변이를 발견할 수 없다²¹⁾는 사실은 이 암유전자의 돌연변이가 위암 발생의 개시 (initiation) 단계에는 작용하지 않으며, 암 발생의 후기에 작용함을 의미하는 것이다. 비록 그 수가 적어서 충분한 통계적 검정력을 갖추지 못하였으나, *H. pylori* 감염과 K-ras 유전자 돌연변이 사이에 유의한 관련성이 없었던 본 연구와 과거 연구^{21), 22)}의

결과를 감안할 때 K-ras 암유전자의 돌연변이는 위암 발생에서 중요한 역할을 하지 않을 것으로 판단되며 *H. pylori* 감염과 연관되어 있을 가능성도 낮은 것으로 판단된다.

지금까지의 결과를 종합하면, 흡연은 위암 발생의 위험도를 높이지만, IL-1B 유전자 다형성과 *H. pylori* 감염력은 위암 위험도를 뚜렷하게 증가시키지 않는 것으로 판단된다. 흡연이나 IL-1B -511 C 대립유전자가 *H. pylori* 감염 가능성을 높이지 않으며, *H. pylori*가 위 조직의 p53이나 K-ras 유전자 돌연변이를 유발함으로써 위암을 발생시키는 경우도 많지 않을 것으로 판단된다. 그러나 본 연구의 결과로는 CagA(+) *H. pylori* 감염이 IL-1B 유전자 다형성이나 암 조직의 p53 유전자 돌연변이와 관련되어 있을 가능성을 배제할 수 없다.㉔

참고문헌

1. 박재갑, 신해림, 박영석, 배재순, 박병규, 노주원 등. 한국중앙 암등록 사업 연례 보고서. (2001.1 -2001.12) 보건복지부. 2003.
2. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelmann JH, Orentreich N, et al. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. N Engl J Med 1991;325:1127-31.
3. Calam J, Gibbons A, Healey ZV, Bliss P, Arebi N. How does Helicobacter pylori cause mucosal damage? Its effect on acid and gastrin physiology. Gastroenterology 1997;113:S43-9.
4. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. Nature 2000;404:398-402.
5. Hahm KB, Lee KJ, Kim JH, Cho SW, Chung MH. Helicobacter pylori infection, oxidative DNA damage, gastric carcinogenesis, and reversibility by rebamipide. Dig Dis Sci 1998;43:725-775.
6. Inoue M, Tajima K, Hirose K, Kuroishi T, Gao CM, Kitoh T. Life-style and subsite of gastric cancer--joint effect of smoking and drinking habits. Int J Cancer 1994;56:494-9.
7. Ye W, Ekstrom AM, Hansson LE, Bergstrom R, Nyren O. Tobacco, alcohol and the risk of gastric cancer by sub-site and histologic type. Int J Cancer 1999;83:223-9.
8. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Klebanoff H, Cover TL, Peek RM, Chyou PH, Stemmermann GN, Nomura A. Infection with Helicobacter pylori strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. Cancer Res 1995;55:2111-5.

9. Kato S, Onda M, Yamada S, Matsuda N, Tokunaga A, Matsukura N. Association of the interleukin-1 beta genetic polymorphism and gastric cancer risk in Japanese. *J Gastroenterol* 2001;36:696-9.
10. Cai L, Yu SZ, Zhang ZF. Glutathione S-transferases M1, T1 genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study. *World J Gastroenterol*, 2001;7:506-9.
11. Shen J, Wang RT, Wang LW, Xu YC, Wang XR. A novel genetic polymorphism of inducible nitric oxide synthase is associated with an increased risk of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2004;10:3278-83.
12. Shun CT, Wu MS, Lin JT, Chen SY, Wang HP, Lee WJ, et al. Relationship of p53 and c-erbB-2 expression to histopathological features, *Helicobacter pylori* infection and prognosis in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 1997;44:604-9.
13. Palli D, Caporaso NE, Shiao YH, Saieva C, Amorosi A, Masala G, et al. Diet, *Helicobacter pylori*, and p53 mutations in gastric cancer: a molecular epidemiology study in Italy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997;6:1065-9.
14. Kubicka S, Claas C, Staab S, Kuhnel F, Zender L, Trautwein C, et al. p53 mutation pattern and expression of c-erbB2 and c-met in gastric cancer: relation to histological subtypes, *Helicobacter pylori* infection, and prognosis. *Dig Dis Sci* 2002;47:114-21.
15. Lan J, Xiong YY, Lin YX, Wang BC, Gong LL, Xu HS, et al. *Helicobacter pylori* infection generated gastric cancer through p53-Rb tumor-suppressor system mutation and telomerase reactivation. *World J Gastroenterol* 2003;9:54-8.
16. Deguchi R, Takagi A, Kawata H, Inoko H, Miwa T. Association between CagA+ *Helicobacter pylori* infection and p53, bax and transforming growth factor-beta-RII gene mutations in gastric cancer patients. *Int J Cancer* 2001;91:481-5.
17. Shibata A, Parsonnet J, Longacre TA, Garcia MI, Puligandla B, Davis RE, et al. CagA status of *Helicobacter pylori* infection and p53 gene mutations in gastric adenocarcinoma. *Carcinogenesis* 2002;23:419-24.
18. Tsuchiya C, Ohshima S, Takahama M. Detection of c-Ki-ras oncogene mutation in gastric adenomas with formalin-fixed, paraffin-embedded biopsy materials. *J Gastroenterol* 1997;32:28-33.
19. Kim TY, Bang YJ, Kim WS, Kang SH, Lee KU, Choe KJ, et al. Mutation of ras oncogene in gastric adenocarcinoma: association with histological phenotype. *Anticancer Res* 1997;17:1335-9.
20. Kim IJ, Park JH, Kang HC, Shin Y, Park HW, Park HR, et al. Mutational analysis of BRAF and K-ras in gastric cancers: absence of BRAF mutations in gastric cancers. *Hum Genet* 2003;114:118-20.
21. Craanen ME, Blok P, Top B, Boerrigter L, Dekker W, Offerhaus GJ, et al. Absence of ras gene mutations in early gastric carcinomas. *Gut* 1995;37:758-62.
22. Murakami K, Mitomi H, Yamashita K, Tanabe S, Saigenji K, Okayasu I. p53, but not c-Ki-ras, mutation and down-regulation of p21WAF1/CIP1 and cyclin D1 are associated with malignant transformation in gastric hyperplastic polyps. *Am J Clin Pathol* 2001;115:224-34.

[Abstract]

Interactions between mutations of p53 and K-ras genes in stomach cancer tissues, Helicobacter pylori infection, and IL - 1 B polymorphism

Hyo-Yung Yun¹, Young-Jin Song¹, Joo-Seung Park², Tai-Sun Hyun³,
Sei-Jin Youn⁴, Yong-Dae Kim⁵, Jong-Won Kang⁵, Heon Kim⁵

Departments of Surgery¹, Departments of Internal Medicine⁴ and Departments of Preventive Medicine⁵, College of Medicine, Chungbuk National University; Department of Surgery, Eulji University, School of Medicine², Department of Food and Nutrition, Chungbuk National University³

Backgrounds	The aim of the study is to assess the effect of cigarette smoking, the <i>IL-1B</i> polymorphism, history of <i>H. pylori</i> infection on gastric cancer and to analyze the association between <i>H. pylori</i> infection and mutations of <i>p53</i> and <i>K-ras</i> genes in gastric cancer tissue.
Methods	One hundred and ten gastric cancer patients and 220 age- and sex-matched controls were included in this study. Information on the smoking habit was gathered, and the <i>IL-1B</i> genotype was identified for every subject. Mutations in the exons of <i>p53</i> and <i>K-ras</i> genes were checked by sequencing. Relationships of cigarette smoking, <i>IL-1B</i> genotype, and anti- <i>H. pylori</i> IgG antibody with the risk of gastric cancer, and with mutations of the <i>p53</i> and <i>K-ras</i> genes in gastric cancer tissue were statistically tested.
Results	The smoking prevalence was higher in cases than in controls, but cumulative smoking amount was not. There was no significant difference in <i>H. pylori</i> infection rate and in <i>IL-1B</i> polymorphic distribution between cases and controls. Cigarette smoking and <i>IL-1B</i> polymorphism were not significantly associated with <i>H. pylori</i> infection. The mutation rates of <i>p53</i> and <i>K-ras</i> genes in cancer tissue did not differ according to the smoking, <i>IL-1B</i> polymorphism or <i>H. pylori</i> infection in cases.
Conclusions	Smoking increases the risk of gastric cancer, but does not that of <i>H. pylori</i> infection. <i>H. pylori</i> would not play a major role in the development of <i>p53</i> or <i>K-ras</i> mutations. However, we cannot rule out the possibility that CagA(+) <i>H. pylori</i> is associated with the <i>IL-1B</i> polymorphism and <i>p53</i> mutation.
Key words	Gastric cancer, cigarette smoking, <i>Helicobacter pylori</i> , <i>IL-1B</i> , <i>p53</i> , <i>K-ras</i> .

[Korean J Health Promot Dis Prev 2005; 1: 37-44]

• Address for correspondence : Heon Kim
Departments of Preventive Medicine
• Tel : +82-43-261-2864
• E-mail : kimheon@pm.cbu.ac.kr