

# 신세포암에서 *RUNX3* 비활성화와 병리학적 특성과의 관계

## The Relationship between *RUNX3* Inactivation and Its Pathological Features in Renal Cell Carcinoma

Whi-An Kwon, Cheol Park, Eun-Jung Kim, Yun-Sok Ha, Yong-June Kim, Seok-Joong Yun, Sang-Cheol Lee, Wun-Jae Kim

From the Department of Urology, College of Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, Korea

**Purpose:** DNA methylation is a key regulator of gene transcription and genomic stability, and alterations in DNA methylation are frequently detected in human tumors. Recent study has suggested that inactivation of runt-related transcription factor 3 (*RUNX3*), primarily epigenetic alterations in DNA methylation, is closely associated with bladder tumor stage, grade, and prognosis. The aim of this study was to evaluate the association between *RUNX3* inactivation and renal cell carcinoma (RCC).

**Materials and Methods:** RCC tissues (n=56) were obtained from patients who underwent radical nephrectomy. The methylation pattern of *RUNX3* was determined by using methylation specific-polymerase chain reaction (MS-PCR) and direct DNA sequencing.

**Results:** Methylation of the *RUNX3* promoter was observed in 75.0% of the samples (42/56). The tumor stage and grade were significantly associated with the methylation status ( $p < 0.05$ , respectively). However, recurrence and progression of RCC were not significantly related to the methylation of the *RUNX3* promoter region (log-rank test,  $p > 0.05$ , respectively).

**Conclusions:** This study demonstrated that promoter methylation of *RUNX3* is frequently observed in RCC. In addition, *RUNX3* methylation is closely associated with aggressive pathologic features. (*Korean J Urol* 2009;50:432-438)

**Key Words:** Human *RUNX3* protein, Methylation, Renal cell carcinoma

Korean Journal of Urology  
Vol. 50 No. 5: 432-438, May 2009

DOI: 10.4111/kju.2009.50.5.432

충북대학교 의과대학 비뇨기과학교실

권희안 · 박 철 · 김은정  
하윤석 · 김용준 · 윤석중  
이상철 · 김원재

Received : March 11, 2009

Accepted : March 30, 2009

Correspondence to: Yong-June Kim  
Department of Urology, College of  
Medicine, Chungbuk National  
University, 62, Gaesin-dong,  
Heungdeok-gu, Cheongju  
361-711, Korea  
TEL: 043-269-6134  
FAX: 043-269-6143  
E-mail: urokyj@cbnu.ac.kr

This work was supported by the  
research grant of the Chungbuk  
National University in 2008.

© The Korean Urological Association, 2009

### 서 론

신세포암은 성인에서 발생하는 악성종양의 3%를 차지하고 그 발생빈도가 꾸준히 증가하고 있으며 환자의 20-50% 정도에서 진단 당시 원격 전이가 발견된다.<sup>1</sup> 신세포암의 예후를 예측할 수 있는 가장 중요한 인자로 종양의 병기와 분화도가 이용되고 있으나 이것만으로는 불충분하며 적절한 종양표지자 또한 없는 실정이다.<sup>2</sup> 지금까지의 연구결과에 따르면 신세포암의 발생과 진행, 재발에는 많은 종양유전자와 성장촉진인자, 세포 내 신호전달분자, 핵 전사인자, 종양억제유전자, 성장억제인자, 혈관형성인자, 세포 부착인자 등이 관여하는 것으로 보인다. 세포유전학적 변경 (cyto-

genic alteration)은 신세포암에서 자주 발견되고 여러 조직학적 아형으로 기술된다. 이러한 변화는 VHL 유전자 (3p25)의 돌연변이 또는 3p 염색체의 소실이나 유두상 신세포암에서 보이는 7과 17 염색체의 세 염색체증인 경우 관찰된다.<sup>3</sup> DNA 메틸화는 유전자 전사와 유전체 안정화의 중요한 조절자이고 DNA 메틸화의 변화는 종양의 후생학적 변화 (epigenetic change)의 가장 중요한 인자이다. 최근 비정상적인 과메틸화는 종양화과정의 초기에 발생하고 정상 세포를 손상시켜 악성으로 전환시킨다는 연구결과가 보고되고 있다. 종양억제유전자 촉진부위의 비정상적인 메틸화는 종양의 전구단계에서 검출될 수 있으며 종양의 진행에 따라 빈도가 증가한다.<sup>4</sup> *Rb* 유전자는 종양성장과 연관되어 있는 과메틸화의 첫번째 종양억제 유전자이고 약 9%의 망막모세

포종에서 *Rb* 5부위에 과메틸화를 보인다.<sup>5</sup> 방광이행세포암에서는 촉진부위주위의 CpG부위의 과메틸화와 *RUNX3*, *p16* 그리고 *E-cadherin* 같은 종양억제 유전자 발현의 감소가 보고되었다.<sup>6-8</sup>

*RUNX* 유전자군은 *RUNX1/AML1*, *RUNX2* 그리고 *RUNX3*로 구성되고 이러한 *RUNX*군은 정상성장과정과 종양성장에서 연계된 역할을 한다.<sup>9</sup> *RUNX1* 부위는 백혈병에서 염색체의 전위가 가장 흔히 발견되는 부위이고 급성백혈병의 약 30%가 관련되어 있다. *RUNX2*는 골 생성에 필수적이며 상염색체 우성 골질환인 쇄골두개골이골증과 연관되어 있다. *RUNX3*는 여러 종양의 종양억제부위로 알려진 1p36.11-1p36.13에 위치하며 위암억제유전자로 확인되었다.<sup>10</sup> 생쥐에서 *RUNX3*의 과열은 소화기상피에서 TGF- $\beta$  1에 대한 민감도를 감소시키는 것에 동반된 세포증식활성과 세포사멸 감소에 의한 과증식을 일으킨다. 이러한 결과는 *RUNX3*가 세포의 분화와 사멸 모두를 조절한다는 것을 보여준다. *RUNX3*는 적어도 p21Waf/Cip and Bim의 전사를 유도하는 것에 의한 부분으로 세포분화를 억제하고 세포사멸을 촉진시키는 것으로 알려져 있다. p53같은 다른 많은 종양억제 유전자는 탈락과 돌연변이에 의해 주로 불활성화되는데 반해 *RUNX3*는 후생학적 잠복 (epigenetic silencing)에 의해 주로 불활성화되는 것이 특징적이다.<sup>11</sup> 최근 DNA 과메틸화에 의한 *RUNX3*의 불활성화는 위암, 폐암, 간암, 유방암, 대장암, 췌장암, 담관암, 전립선암, 후두암 그리고 방광암에서 보고되었다.<sup>12-15</sup> 이와 같이 다양한 종양에서 *RUNX3*와 종양발생에 대한 연구가 시행되고 있으나, 신세포암에서는 전무한 실정이다. 이에 저자들은 인체 신세포암에서 *RUNX3* 촉진자 부위의 과메틸화가 가지는 임상적 의의에 대하여 알아보려고 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

본원 비뇨기과에서 신세포암으로 진단받고 근치적 신적출술을 시행한 조직 56례를 대상으로 하였다. 평균 연령은 55.0 $\pm$ 11.5세였고, 성별은 남자 40명 (71.4%), 여자 16명 (28.6%)이었다. 평균 추적관찰기간은 68.8개월 (1.4-133.6, 중앙값 64.5)이었다 (Table 1). 종양의 병리학적 병기는 2002년 AJCC의 TNM분류를 따랐으며,<sup>16</sup> 조직학적 분화도는 Fuhrman 분류법에 따라 grade 1, 2, 3, 4로 분류하였다.<sup>17</sup> 수술 후 추적검사로 는 골반을 포함한 컴퓨터단층촬영 및 골주사 검사를 시행하였다. 신와에 반복하여 종양이 발생한 경우를 재발로 정의하였고, 컴퓨터단층촬영에서 원격전이 소견을 보이거나 골주사 검사에서 골전이 소견을 보인 경우를

**Table 1.** Patients and pathologic classification

Variables	No. of patients (%)
No (%)	56 (100)
Age (years)	
Median (range)	54.5 (31-78)
Sex	
Male	40 (71.4)
Female	16 (28.6)
Histologic subtype	
Conventional	46 (82.1)
Papillary	10 (17.9)
Pathologic T stage	
pT1a	15 (26.8)
pT1b	19 (33.9)
pT2	9 (16.0)
pT3	12 (21.5)
pT4	1 (1.8)
Nuclear grade	
1	11 (19.6)
2	17 (30.4)
3	18 (32.1)
4	10 (17.9)

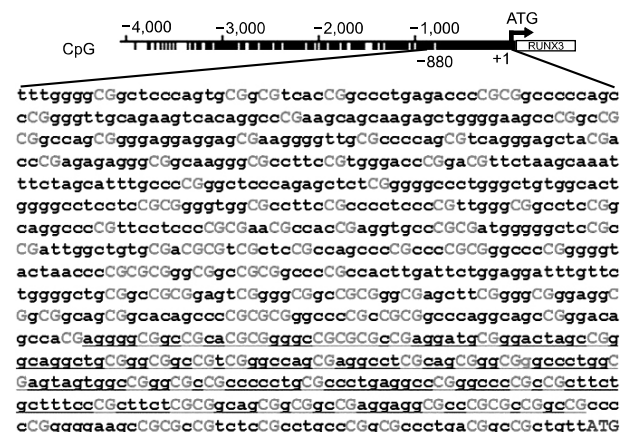
진행으로 정의하였다. 본 연구는 본원 내 의학 연구 윤리심의 위원회의 승인을 얻은 후, Helsinki 선언에 의거하여 연구를 진행하였다.

### 2. Genomic DNA 추출

Genomic DNA는 Wizard Genomic DNA Purification System (Promega, Madison, USA)를 사용하여 추출하였다. 동결조직에 Nuclei Lysis 600  $\mu$ l를 넣고 Heidolph (model DIAX100, Germany)를 사용하여 분쇄한 후에 RNase 용액을 넣은 후 65°C에서 30분 동안 배양하였다. 200  $\mu$ l의 단백질을 침전용액을 넣고 13,000 rpm에서 3분 동안 원심분리하고 600  $\mu$ l의 isopropanol이 들어 있는 새로운 eppendorf tube에 상층액을 넣은 후 13,000 rpm에서 1분 동안 원심분리하여 genomic DNA를 추출한 후 이 genomic DNA를 70% ethanol 침전과정을 거친 후 멸균한 dH<sub>2</sub>O로 용해시켰다.

### 3. Methylation의 측정

Methylation specific-PCR (MS-PCR)은 Frommer 등<sup>18</sup>의 방법을 이용하여 실행하였다. 2  $\mu$ g의 DNA를 전체 용적이 50  $\mu$ l가 되도록 H<sub>2</sub>O로 희석하였고 2 M NaOH 5.5  $\mu$ l를 첨가하였다. 37°C에서 10분 동안 방치한 후 10 mM hydroquinone (Sigma) 30  $\mu$ l와 3 M sodium bisulfite (pH 5.0) 520  $\mu$ l를 첨가하였다. 혼합액을 50°C에서 16시간 동안 처리한 후 column (Wizard DNA Clean-UP System, Promega-USA)을 사용하여

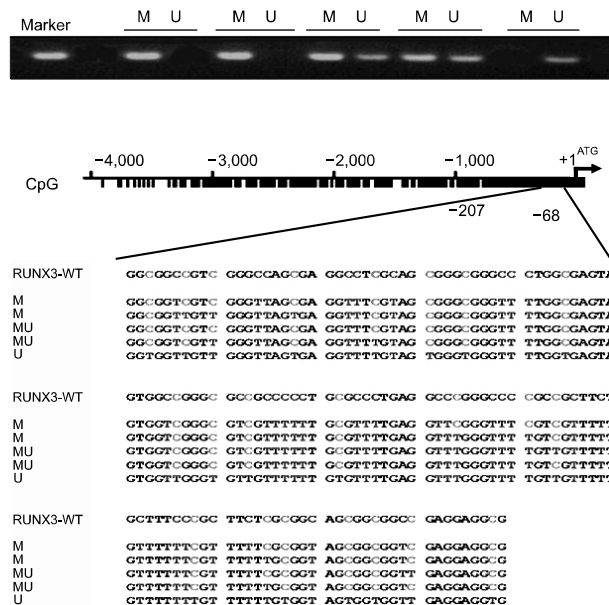


**Fig. 1.** Nucleotide sequence of runt-related transcription factor 3 (*RUNX3*) promoter region. Nucleotide sequence from  $-880$  to  $+1$  region is shown. CpG dinucleotides are marked in bold.

DNA를 정제하였다. DNA pellet을 멸균한 dH<sub>2</sub>O 20  $\mu$ l로 녹이고 이 중 2  $\mu$ l를 PCR에 사용하였다. 전처리하지 않은 DNA에 Rx3-5W (5'-GAGGGGCGGCCGCACGCGGG-3')와 Rx3-3W (5'-CGGCCGGCGCGGGCGCCTCC-3')를 primer로 사용하였다. 메틸화된 DNA를 검출하기 위해 Rx3-5M (5'-TACGAGGGGCGGTCGTACGCGGG-3')과 Rx3-3M (5'-AAACGACCGACGCGAACGCCTCC-3')을, 비메틸화된 DNA를 검출하기 위해서는 Rx3-5U (5'-TTATGAGGGGTGGTTGTATGTGGG-3')와 Rx3-3U (5'-AAAACAACCAACACAAACACCTCC-3')를 primer로 사용하여 변성, 95°C 15초; 어닐링, 58°C 50초; 신장, 72°C 60초의 조건에서 DNA Thermal Cycler (Perkin-Elmer, Foster, USA)를 이용하여 40주기의 PCR을 실행하였다. PCR 산물의 정제는 QIA quick Gel Extraction Kit (Qiagen, Germany)를 이용하여 순수도를 높였으며 dye terminator DNA sequencing 방법 (바이오리넥스, 청주, 대한민국)에 의해 sequencing하였다. 신세포암의 *RUNX3* 촉진자 부위의 CpG 부위의 순서를 분석하였고 (Fig. 1), 이 결과는 직접염기서열 결정법 (direct DNA sequencing)을 통해 재확인하였다 (Fig. 2).

#### 4. 통계학적 방법

메틸화 유무에 따른 신세포암 환자의 병리학적 특성과 비교 분석하였고 *RUNX3* 촉진자 부위의 메틸화 상태에 따라 분류된 신세포암의 조직학적 병기, 등급, 재발, 진행 양상을 비교 분석하였다. 대상군을 *RUNX3* 촉진자 부위의 메틸화 유무에 따라 양 군으로 구분하였으며, 이들에게서 나타나는 임상 및 병리학적 특성에 대하여 chi-square test, Fisher's exact test 및 선형대 선형 결합법을 이용하여 비교 분석하였다. 양 군 간 신세포암의 재발 및 진행은 log-rank test를 이용



**Fig. 2.** Methylation of the runt-related transcription factor 3 (*RUNX3*) promoter region in renal cell carcinoma (RCC) cell lines. DNA from 5 RCC cell lines was analyzed by methylation specific polymerase chain reaction (PCR) followed by direct DNA sequencing. Methylated CpG cytosines remained as cytosines, whereas unmethylated cytosines changed to thymidines in the PCR products.

한 Kaplan-Meier survival curve로 비교 분석하였다. 통계프로그램은 SPSS 12.0 (SPSS Inc, Chicago, USA)을 이용하였고, p값이 0.05 미만일 때 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

## 결 과

## 1. 환자군과 병리학적 분류

총 56명 환자의 신세포암 조직을 대상으로 하였다. 남자와 여자는 각각 40명 (71.5%)과 16명 (28.5%)이고, 조직학적 유형 (histologic type)은 고식적형 (conventional type)이 46례 (82.1%), 유두상형 (papillary type)이 10례 (17.9%)였다. 병기는 T1a, T1b, T2, T3, T4가 각각 15례 (26.8%), 19례 (33.9%), 9례 (16.0%), 12례 (21.5%), 1례 (1.8%)였고 등급은 G1, G2, G3, G4가 각각 11례 (19.6%), 17례 (30.4%), 18례 (32.1%), 10례 (17.9%)였다 (Table 1).

## 2. 연령, 성별, 조직학적 유형과 *RUNX3* 촉진자 부위의 메틸화

전체 신세포암 환자 중 75.0% (42/56명)에서 *RUNX3* 촉진  
자 부위의 메틸화가 관찰되었다. *RUNX3* 촉진자 부위의 메

**Table 2.** Correlation of *RUNX3* methylation status with age, sex, histology, recurrence and progression

Variables	Methylation status		p-value
	Unmethylated	Methylated	
Age			0.759 <sup>a</sup>
< 60 (%)	9 (27.3)	24 (72.7)	
≥ 60 (%)	5 (21.7)	18 (78.3)	
Sex			0.498 <sup>b</sup>
Male (%)	11 (27.5)	29 (72.5)	
Female (%)	3 (18.7)	13 (81.3)	
Histology			0.690 <sup>b</sup>
Conventional (%)	11 (24.0)	35 (76.0)	
Papillary (%)	3 (30.0)	7 (70.0)	
Recurrence			0.575 <sup>b</sup>
Yes (%)	0 (0)	1 (100.0)	
No (%)	11 (24.4)	34 (75.6)	
Progression			0.746 <sup>b</sup>
Yes (%)	2 (20.0)	8 (80.0)	
No (%)	9 (25.0)	27 (75.0)	

*RUNX3*: runt-related transcription factor 3, <sup>a</sup>: Fisher's exact test, <sup>b</sup>: chi-square test

틸화는 연령, 성별, 조직학적 형태에 따른 차이는 보이지 않았다. 연령이 60세 미만인 경우 72.7% (24/33)에서 메틸화가 관찰되었고 60세 이상인 경우 78.3% (5/23)에서 메틸화가 관찰되었으며, 연령에 따른 차이는 없었다 ( $p=0.759$ ). 성별의 경우 남자에서 72.5% (29/40)에서 메틸화가 관찰되었고 여자에서 81.3% (13/16)에서 메틸화 소견을 보였으며 성별에 따른 차이는 없었다 ( $p=0.498$ ). 조직학적 유형에 따른 경우는 고식형에서 76.0% (35/46)에서 메틸화가 관찰되었고 유두상형에서 70.0% (7/10)에서 메틸화 소견을 보였으며 조직학적 유형에 따른 차이는 없었다 ( $p=0.690$ ) (Table 2).

### 3. 병기, 등급과 *RUNX3* 촉진자 부위의 메틸화

*RUNX3* 촉진자 부위의 메틸화는 병기, 등급과 밀접한 관계가 있었다. 병기의 경우 메틸화는 T1a에서 60.0% (9/15), T1b에서 68.4% (13/19), T2에서 88.9% (8/9), T3에서 91.7% (11/12), T4에서 100.0% (1/1)에서 관찰되었으며, 병기가 높을수록 메틸화의 빈도가 증가하는 경향을 보였다 ( $p$  for linear trend=0.027). 등급의 경우에는 1등급에서 63.6% (7/11), 2등급에서 58.8% (10/17), 3등급에서 88.9% (16/18), 4등급에서 90.9% (9/10)가 메틸화 소견을 보였다. 이는 분화도가 나뉠수록 *RUNX3* 촉진자 부위의 메틸화가 증가하는 경향을 보였다 ( $p$  for linear trend=0.039) (Table 3).

**Table 3.** Correlation of *RUNX3* methylation status with stage and grade

Variables	Methylation status		p-value <sup>a</sup>
	Unmethylated	Methylated	
Pathologic T stage			0.027
pT1a (%)	6 (40.0)	9 (60.0)	(p for linear trend)
pT1b (%)	6 (31.6)	13 (68.4)	
pT2 (%)	1 (11.1)	8 (88.9)	
pT3 (%)	1 (8.3)	11 (91.7)	
pT4 (%)	0 (0)	1 (100.0)	
Nuclear grade			0.039
1 (%)	4 (36.4)	7 (63.6)	(p for linear trend)
2 (%)	7 (41.2)	10 (58.8)	
3 (%)	2 (11.1)	16 (88.9)	
4 (%)	1 (10.0)	9 (90.0)	

*RUNX3*: runt-related transcription factor 3, <sup>a</sup>: chi-square, linear by linear association

### 4. 재발, 진행과 *RUNX3* 촉진자 부위의 메틸화

Kaplan-Meier 생존분석 결과 메틸화 음성군의 평균 무재발 생존기간은 61.3개월이었고, 메틸화 양성군에서는 평균 무재발 생존기간이 67.7개월로 의미 있는 차이를 보이지 않았으며 ( $\log$  rank,  $p=0.260$ ), 메틸화 음성군의 평균 무진행 생존기간은 5.0개월이었고, 메틸화 양성군에서는 평균 무진행 생존기간이 6.8개월로 의미 있는 차이를 보이지 않았다 ( $\log$  rank,  $p=0.322$ ).

## 고 찰

유전학적 기법의 발달은 의학의 여러 분야에서 급속한 발전을 가져왔으며, 악성 종양에 있어서도 유전자 부문에서 종양의 발생, 진행 및 예후에 영향을 미치는 많은 인자들이 밝혀졌다. 이들 중 p53과 같이 독립적으로 받아들여지고 있는 인자도 있으나,<sup>19</sup> 아직 명확하게 종양 발생, 진행 및 예후를 알 수 있는 방법은 없는 실정이다. 질병의 진행에서는 몇몇 후생학적 사건들이 우선해서 발생하기 때문에 이러한 생화학적 인자를 이용한 분자수준의 진단이 증상의 발현이나 방사선학적 확진 전에 가능하며 그 필요성이 대두되고 있다. 따라서 임상적 측면에서, 종양의 조기진단과 예후 예측인자로서 메틸화 분석이 주목 받고 있다.

유전자 촉진자 부위의 메틸화는 종양억제유전자의 활성화에 중요한 역할을 하고 CpG islands의 사이토카인 잔재의 메틸화 정도와 전사과정의 활성화 사이에는 역 비례관계가 있다는 것이 이미 알려져 있다.<sup>5</sup> DNA 메틸화에 의한 전사억제는 염색체 구조의 변화와 관련이 있고 히스톤의 탈아

세틸화는 염색체를 압축시킴으로써 전사를 억제한다. 많은 종양억제유전자는 촉진자 부위에 CpG islands를 가지고 있고 이 부위의 메틸화에 의해 전사가 억제된다. *Rb* 유전자가 과메틸화에 의해 암을 일으키는 종양억제유전자로 처음 보고되었고, 이는 망막모세포종의 약 9%에서 *Rb*의 5번 말단 부위 과메틸화에 기인한 것이다.<sup>5</sup> 지금까지 폐암에서 *Rb*, *p16*, *RAR-β*, *H-cadherin*, *DAPK* 및 *RASSF1A*를 포함한 여러 유전자들의 촉진자 부위의 메틸화가 보고되었다.<sup>20</sup> 또한 Catto 등<sup>21</sup>은 11개의 유전자 촉진자와 280개의 악성 비뇨기 종양종례 (방광 116례, 상부요로 164례)를 통해 메틸화는 높은 병기, 진행, 사망률과 연관되어 있다는 것을 보여주었고, 다변량 분석을 통해 *RASSF1A*와 *DAPK* 부위의 메틸화가 종양의 병기, 등급, 진행과 연관되었음을 밝혔다. 최근에는 Yates 등<sup>8</sup>이 17개의 유전자 촉진자와 96개의 악성 요로상피 종양을 연구하여 메틸화가 병기보다 진행과 생존율과 관련되어 있다고 발표하였다.

*RUNX3*는 2002년 인간의 위암조직에서 CpG islands의 촉진자 부분이 과메틸화에 의해 불활성화 되었다는 Li 등<sup>10</sup>의 연구 이후 폐암, 대장암, 췌장암, 간암, 전립선암, 담관암, 유방암, 후두암, 식도암, 자궁암, 자궁경부암, 그리고 고환난 황막종양 (testis yolk sac tumor)에서 *RUNX3* 촉진자 부위의 과메틸화에 의한 비활성화가 보고되었다.<sup>15,22</sup> 본 저자들은 이전의 연구에서 *RUNX3* 유전자 촉진자 부위의 메틸화가 방광암 발생을 100배 증가시킨다고 보고하였는데, 원발성 방광암의 *RUNX3* 과메틸화 비율은 73% (90/124)이고 방광암 세포주는 86% (6/7)였다.<sup>7</sup> 이러한 결과는 촉진자 메틸화의 형태가 인과적으로 방광의 발암과정과 연관되어 있다는 것을 보여주었다. 이후 더 많은 환자군을 추가하고, 장기간의 추적 관찰을 시행한 연구에서 원발성방광암에서 *RUNX3* 유전자 촉진자 부위의 메틸화가 침윤성방광암의 발생, 암의 진행과 생존율과 연관성이 있었고, 다변량 분석 결과 암의 진행과 종양 특이 생존율을 예측하는 독립적 인자로 밝혀졌다.<sup>23</sup>

본 연구는 높은 유병률을 나타내는 비뇨기 종양의 하나인 신세포암에서 유전자 순서와 *RUNX3* 유전자 촉진자 부위의 메틸화 상태를 분석하였고, 신세포암 조직 중 75%에서 *RUNX3* 유전자 촉진자 부위의 메틸화가 관찰되어 신세포암과 *RUNX3* 유전자 촉진자 부위의 과메틸화 사이의 강한 연관성을 보여주었다. 그리고 병기와 등급과 *RUNX3* 유전자 촉진자 부위의 메틸화도 밀접한 관련이 있어 이 부위가 메틸화 되어있을 경우 병기와 등급이 증가하는 결과를 보였다. 현재까지 신세포암 환자에서 예후를 예측할 수 있는 독립적인 인자들로 병리학적인 병기, 핵분화도, 세포아형 등이 알려져 있으나,<sup>2</sup> 이를 미리 예측하고 임상에 적용하

기에는 한계가 있다. 최근 신세포암의 예후 예측에 있어 분자생물학적인 인자에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있는데 Rini와 Rathmell<sup>24</sup>은 vascular endothelial growth factor (VEGF)가 신세포암 발생의 핵심 조절자이고, VHL 유전자 손상의 결과로 VEGF가 증가하여 저산소증 반응경로 (hypoxia response pathway)를 활성화 시킨다고 하였다. 그리고 VEGF는 신세포암에서 과도한 신생혈관을 만들고 종양을 진행시키므로 VEGF 발현을 조절하는 것이 신세포암 치료에 중요하다고 하였고, 이곳을 표적으로 한 치료제가 개발되어 임상에 적용되고 있다.<sup>25</sup> 국내에서도 신세포암의 예후 인자를 찾는 연구가 활발히 진행되고 있다. Won 등<sup>26</sup>은 tissue microarray를 이용하여 caveloin-1의 발현이 불량한 예후와 연관이 있어서, 신세포암의 진행에 중요한 역할을 한다고 하였고, Cho 등<sup>27</sup>은 인체 신세포암에서 cyclooxygenase-2와 microsomal prostaglandin E2 synthase-1의 발현에 대한 연구를 시행하여 이를 치료 전략으로 세우는데 도움이 될 것이라고 하였다. 아울러 접근이 용이하고 반복적인 추적 검사가 가능한 혈액검사를 이용하여 예후 인자를 찾으려는 노력도 시행되고 있다. Kwon 등<sup>28</sup>은 혈청 VEGF 수치가 예후 인자로서 병기, 조직분화도에 상당하는 가치가 있으며, 신혈관생성을 억제하는 항암제 치료를 받는 환자에서 치료 경과 및 예후 판정에 효용성이 있을 것이라고 예상하였다. Oh 등<sup>29</sup>은 혈소판증가증이 진행된 신세포암에서 더 흔히 발견되었으며 이러한 환자들은 좋지 않은 예후를 보여 혈소판수가 신세포암 환자에서 수술 후 예후인자가 될 수 있다고 주장하였다. 또한 Kim 등<sup>30</sup>은 수술 전 증가된 적혈구침강속도 (erythrocyte sedimentation rate; ESR), C 반응단백 (C-reactive protein; CRP), 수술 후 증가된 CRP가 비전이성 신세포암 환자에서 높은 재발률을 보여 신세포암에서 ESR, CRP의 예후인자로서의 가능성을 제시하였다. 이러한 연구에도 불구하고 현재 진단과 예후판정에 가치 있어 임상 영역에서 활발히 사용되는 뚜렷한 종양표지자가 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 이와 같이 예후인자가 부족한 신세포암 치료에 있어서 새로운 종양표지자로서 유용하게 사용될 수 있는 가능성을 제시하였고, 이곳을 표적으로 한 치료제 개발의 원천이 될 수 있다. 신세포암의 치료에 있어서 무엇보다도 수술적 절제가 가능한 신세포암을 조기에 진단하는 것이 중요하지만 절제 가능한 신세포암 환자에 있어 술 후 진행의 예방과 진행된 경우 임상경과 예측이 어렵고 각종 치료에 반응도 낮으므로 효과적인 치료 방법의 개발이 필요하다. 위암과 *RUNX3*와의 연구에서 DNA methyltransferase와 histone deacetylase 억제제의 조합으로 *RUNX3*의 재활성화가 관찰되었듯이,<sup>10</sup> DNA를 탈메틸화 시키거나, 메틸화를

억제하는 약물이 개발된다면 *RUNX3*가 정상 세포기능과 암 억제 유전자의 기능을 회복할 수 있고, 면역치료 등과 같이 고병기, 고등급의 신세포암 치료에 적용할 수 있을 것이다. 본 연구의 한계로는 종양치료의 중요한 관심사인 재발, 진행과의 상관관계가 관찰되지 않았다는 점이다. 이는 제한된 추적기간과 환자수 때문으로 보이며, 장기간의 대단위 연구가 진행된다면 신세포암의 의미 있는 종양표지자가 되어 임상적으로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각한다.

## 결론

본 연구결과 전체 신세포암 환자 중 75.0%에서 *RUNX3* 촉진자 부위의 메틸화가 관찰되었고, 메틸화에 의한 *RUNX3* 촉진자 부위의 비활성화가 신세포암에서 조직학적 병기와 등급에서 밀접한 관련성을 보였다. 이는 *RUNX3* 촉진자 부위의 메틸화가 신세포암 발생의 악성도를 반영하는 것으로 생각되며 이를 임상에서 전통적인 임상 및 병리학적 특성과 병용하여 시행할 경우 고위험 환자군을 조기에 선별하여 보다 적절한 추적관찰과 치료를 제시할 수 있을 것으로 생각한다.

## REFERENCES

- Linehan WM, Zbar B, Bates SE, Zelefsky MJ, Yang JC. Cancer of the kidney and ureter. In: Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA, editors. Cancer: principles and practice of oncology. 6th ed. Philadelphia: Lippincott; 2001;1362-95
- Ficarra V, Righetti R, Pilloni S, D'amico A, Maffei N, Novella G, et al. Prognostic factors in patients with renal cell carcinoma: retrospective analysis of 675 cases. Eur Urol 2002;41:190-8
- Pavlovich CP, Schmidt LS, Phillips JL. The genetic basis of renal cell carcinoma. Urol Clin North Am 2003;30:437-54
- Wong IH, Lo YM, Zhang J, Liew CT, Ng MH, Wong N, et al. Detection of aberrant p16 methylation in the plasma and serum of liver cancer patients. Cancer Res 1999;59:71-3
- Ohtani-Fujita N, Dryja TP, Rapaport JM, Fujita T, Matsumura S, Ozasa K, et al. Hypermethylation in the retinoblastoma gene is associated with unilateral, sporadic retinoblastoma. Cancer Genet Cytogenet 1997;98:43-9
- Horikawa Y, Sugano K, Shigyo M, Yamamoto HO, Nakazono M, Fujimoto H, et al. Hypermethylation of an E-cadherin (CDH1) promoter region in high grade transitional cell carcinoma of the bladder comprising carcinoma in situ. J Urol 2003;169:1541-5
- Kim EJ, Kim WJ. The causal relationship between *RUNX3* and bladder tumor. Korean J Urol 2005;46:1192-8
- Yates DR, Rehman I, Abbod MF, Meuth M, Cross SS, Linkens DA, et al. Promoter hypermethylation identifies progression risk in bladder cancer. Clin Cancer Res 2007;13:2046-53
- Lund AH, van Lohuizen M. *RUNX*: a trilogy of cancer genes. Cancer Cell 2002;1:213-5
- Li QL, Ito K, Sakakura C, Fukamachi H, Inoue K, Chi XZ, et al. Causal relationship between the loss of *RUNX3* expression and gastric cancer. Cell 2002;109:113-24
- Bae SC, Lee YH. Phosphorylation, acetylation and ubiquitination: the molecular basis of *RUNX* regulation. Gene 2006;366:58-66
- Kim WJ, Kim EJ, Jeong P, Quan C, Kim J, Li QL, et al. *RUNX3* inactivation by point mutations and aberrant DNA methylation in bladder tumors. Cancer Res 2005;65:9347-54
- Li QL, Kim HR, Kim WJ, Choi JK, Lee YH, Kim HM, et al. Transcriptional silencing of the *RUNX3* gene by CpG hypermethylation is associated with lung cancer. Biochem Biophys Res Commun 2004;314:223-8
- Wada M, Yazumi S, Takaishi S, Hasegawa K, Sawada M, Tanaka H, et al. Frequent loss of *RUNX3* gene expression in human bile duct and pancreatic cancer cell lines. Oncogene 2004;23:2401-7
- Xiao WH, Liu WW. Hemizygous deletion and hypermethylation of *RUNX3* gene in hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol 2004;10:376-80
- Green FL, Page DL, Fleming ID, Fritz A, Balch CM, Haller DG, et al. AJCC cancer staging manual. 6th ed. New York: Springer-Verlag; 2002;323-8
- Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. Am J Surg Pathol 1982;6:655-63
- Frommer M, McDonald LE, Millar DS, Collis CM, Watt F, Grigg GW, et al. A genomic sequencing protocol that yields a positive display of 5-methylcytosine residues in individual DNA strands. Proc Natl Acad Sci USA 1992;89:1827-31
- Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Hostetter R, Cleary K, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. Nature 1989;342:705-8
- Nuovo GJ, Plaia TW, Belinsky SA, Baylin SB, Herman JG. In situ detection of the hypermethylation-induced inactivation of the p16 gene as an early event in oncogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96:12754-9
- Catto JW, Azzouzi AR, Rehman I, Feeley KM, Cross SS, Amira N, et al. Promoter hypermethylation is associated with tumor location, stage, and subsequent progression in transitional cell carcinoma. J Clin Oncol 2005;23:2903-10
- Goel A, Arnold CN, Tassone P, Chang DK, Niedzwiecki D, Dowell JM, et al. Epigenetic inactivation of *RUNX3* in microsatellite unstable sporadic colon cancers. Int J Cancer 2004;112:754-9
- Kim EJ, Kim YJ, Jeong P, Ha YS, Bae SC, Kim WJ. Methylation of the *RUNX3* promoter as a potential prognostic marker for bladder tumor. J Urol 2008;180:1141-5

24. Rini BI, Rathmell WK. Biological aspects and binding strategies of vascular endothelial growth factor in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007;13:741s-6
  25. Motzer RJ, Rini BI, Bukowski RM, Curti BD, George DJ, Hudes GR, et al. Sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma. *JAMA* 2006;295:2516-24
  26. Won YY, Joo HJ, Cho DS, Seo KS, Ahn BC, Kim KH, et al. Correlation of caveolin-1 expression on tissue microarray with prognosis in renal cell carcinoma. *Korean J Urol* 2006;47: 607-13
  27. Cho YH, Jang TJ, Lee KS. Expression of cyclooxygenase-2 and microsomal prostaglandin E<sub>2</sub> synthase-1 in human renal cell carcinoma. *Korean J Urol* 2005;46:1057-63
  28. Kwon NS, Jo MK, Lee HM. Serum levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) as a prognostic factor in renal cell carcinoma. *Korean J Urol* 2007;48:1219-23
  29. Oh BS, Park SH, Park YI. Significance of thrombocytosis as a prognostic factor after radical nephrectomy in patients with renal cell carcinoma. *Korean J Urol* 2004;45:1095-9
  30. Kim YK, Kim SI, Kim SJ. Significance of erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein as predictive factors for prognosis in non-metastatic renal cell carcinoma. *Korean J Urol* 2006;47:1059-64
-