

한국 자궁경부암 여성에서의 ras association domain family 1A (RASSF1A) Ala133Ser 유전자 다형성 연구

가톨릭대학교 의과대학 산부인과학교실¹, 연세대학교 의과대학 예방의학교실², 국립암센터 호발암센터³
이근호¹ · 설재웅² · 박정웅² · 윤지은² · 신해림³ · 오해철² · 이종은² · 김찬주¹ · 지선하² · 박종섭¹

목적 : Ras association domain family 1A (RASSF1A) 유전자는 프로모터 과메틸화 반응에 의하여 몇 가지 암종에서 불활성화되어 암화 과정에서 중요한 역할을 한다. 이 연구의 목적은 자궁경부암 암화 과정에서 흡연, 첫 성교 나이와 같은 환경 요소에 따른 RASSF1A Ala133Ser 유전자 다형성의 영향을 보고자 하였다.

연구 방법 : 실험군은 인유두종 바이러스 양성을 보인 자궁경부 병변을 가진 705명의 환자를 대상으로 하였다. 정상 대조군은 641명이었다. 모든 대상군은 SNaPshot single base primer extension assay를 통하여 유전자 분석을 하였다.

결과 : RASSF1A TT/GT에 비하여, RASSF1A GG 시 침윤성 자궁경부암 발생 빈도는 1.4 (95% CI, 0.9-2.1)였고, 자궁경부 이형성증 2, 3기의 발생 빈도는 1.1 (0.7-1.7)이었다. 자궁경부암의 위험도는 40세 이상에서 진단 받은 군보다(1.0, 0.7-1.5) 진단 시 40세 이전군에서 더 높았다(1.6, 1.0-2.6). RASSF1A GG 다형성증의 현재 흡연 여성은 자궁경부암의 위험도가 2.7 (1.3-5.9)배 증가되었다. RASSF1A TT/GT에 비하여 첫 성교 나이가 이른 RASSF1A GG 여성은 자궁경부암의 위험도가 높았다.

결론 : 결론적으로 RASSF1A Ala133Ser 유전자 다형성증은 자궁경부암의 발생에 중요한 연관이 되어 있으며, 특히 조기 발생 자궁경부암화 과정에 작용을 할 것으로 예상된다.

중심단어 : 자궁경부암, RASSF1A, 유전자 다형성, 흡연, 성교

서 론

Ras association domain family 1A (RASSF1A) 유전자는 염색체 3번 p21.3에 위치하는 종양 억제기능을 가진 유전자로 loss of heterozygosity (LOH)가 빈번하게 발생한다.¹ 또한 몇 종류의 암 안에 RASSF1A는 프로모터 과메틸화를 통한 억제가 되어 암화 과정에서 중요한 의미가 있는 것으로 생각된다.²⁻⁵

최근 일련의 연구에서 RASSF1A의 코돈 133번(알라닌 세린)에서의 유전자 다형성이 몇 가지 암에서 발견되었다.^{1,4,6-8} 이 유전자의 다형성증은 세린/트레오닌(serine/threonine) 키나아제의 ATM/ATR family 공통 기질 위치

에 일치하는 인산화 위치를 바꾸는 역할을 수행한다.⁶ 담배 흡연은 RASSF1A 과메틸화의 위험 요소이며,⁹ 몇몇 연구에서 암의 위험성을 증가시키는 데 흡연과 더불어 RASSF1A의 역할에 대하여 가설을 제시하였다.¹⁰ 그러나 자궁경부암에서는 담배 흡연과 RASSF1A의 잠재적 유전적 연결 기능 여부에 대하여 아직 알려진 바 없다.

이번 연구에서는 여성 자궁 경부암이 RASSF1A 코돈 133 유전자 다형성증과 관련 여부를 확인하고, 흡연과 첫 번째 성교의 나이 같은 다른 환경 요인과의 연관성을 보고자 하였다.

연구 대상 및 방법

연구 대상은 2000년 10월부터 2001년 12월까지 가톨릭대학교 산부인과를 방문한 환자 1,572명으로 하여 자

논문접수일 : 2006년 12월 9일 채택일 : 2007년 1월 12일
교신저자 : 박종섭, 137-701 서울시 서초구 반포동 505
가톨릭대학교 의과대학 강남성모병원 산부인과
전화 : (02) 590-2748 · 전송 : (02) 595-8774
E-mail : jspark@catholic.ac.kr

궁경부암에 대한 후향적 연구를 시행하였다. 인유두종 바이러스 감염이 확인된 자궁경부 이형성증 705명의 환자에서 정보를 수집하였고, 이들 실험군은 자궁경부 저등급 병변(이형성증 초기 및 중기) 85명, 고등급 병변(이형성증 말기) 268명, 352명의 자궁경부 침윤성 암환자(편평세포암 303예, 선암 49예)가 포함되었다. 같은 기간에 산부인과를 방문하여 정상 소견을 보인 641명의 대조군으로 하여 비교하였다.

연구 항목은 설문지를 통하여 나이, 교육 정도, 초경 시 나이, 첫 번째 성교 나이, 자녀 수, 폐경 유무, 가족력, 흡연력과 배우자의 흡연력에 대한 정보를 확인하였다. 또한 개인의 신장과 체중을 측정하여 신체 질량 지수(kg/m^2)로 계산을 하였다. 만일 평생 100개피 이상의 담배를 흡연하였으면 흡연자로 분류하였고, 간접 흡연은 배우자의 흡연력이 있는 경우에 한하였다. 혈액은 전날 저녁 금식 후 다음날 아침 8시에서 11시에 누운 자세에서 채취하였다. 유전적 검사를 위하여 EDTA 1 vol이 포함되어 있는 용기에 전혈을 채취한 후에 $2,500 \times \text{g}$ 에서 15분간 원심분리를 하였다.

1. 유전체 DNA 준비와 RASSF1A 유전형 분석

유전체 DNA는 말초혈액에서 Puregene blood DNA kit (Gentra Inc. Minneapolis, MN)를 이용하여 제조사의 프로토콜에 따라서 준비하였다. 실험군과 대조군의 혈액의 유전형 분석을 위하여 ABI Prism SNaPshot Multiplex kit (ABI, Foster City, CA)와 단일 염기(single base) primer extension assay를 이용하여 검사를 시행하였다. 간단히 설명하면 유전체 DNA는 순방향 5'-CCTGTGTCCATGCTGGCC와 역방향 5'-TTACTGCTTGCGCCACC primer pairs에 의한 PCR 반응에 의하여 증폭되어 10 ng의 유전체 DNA, 0.5 pM의 각 단염기 primer, 1 ml의 10X PCR Gold buffer, 250 μM dNTP, 3 mM MgCl_2 와 0.25 unit AmpliTaqGold polymerase (Roche, Branchburg, NJ)을 포함하는 10 ml의 반응 용량의 표준화 PCR 시약에서 반응시켰다. PCR 반응은 10분 95°C 1주기, 30주기 95°C 30초, 65°C 1분, 72°C 1분 이후에 1주기 72°C 7분간 하였다. 증폭 후에는 PCR 산물은 1 unit의 shrimp alkaline phosphatase (SAP) (Roche)와 exonuclease I (USB Corporation, Cleveland, OH)를 이용하여 37°C 60분간, 72°C 15분간 처리하여 정제하였다. 1 ml의 정제된 증폭 물질을 geno-

Table 1. General characteristics of study subjects

Characteristics	Controls (n=641)		Cases (n=705)						F-value p-value	
	Mean	SD [†]	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD		
Age (year)	45.7	10.4	39.0	9.1	43.2	10.1	50.1	11.0	36.9	<0.0001
Height (cm)	158.2	4.8	159.9	4.4	158.8	4.6	157.1	5.0	10.8	<0.0001
Weight (kg)	56.8	8.2	55.3	6.9	55.9	6.7	58.1	8.3	5.5	0.0010
Body mass index (kg/m^2)	22.7	3.1	21.6	2.5	22.2	2.6	23.6	3.2	15.5	<0.0001
Education (year)	12.1	3.2	12.6	2.5	11.5	3.5	9.8	4.1	37.7	<0.0001
Menarche (year)	15.4	1.7	15.0	1.8	15.3	1.7	15.8	1.8	6.4	0.0003
First intercourse (year)	24.6	3.3	22.8	2.9	23.5	3.0	22.6	3.1	30.8	<0.0001
Number of children	1.8	1.3	1.7	1.1	2.2	1.2	2.7	1.4	38.2	<0.0001
	n	%	n	%	n	%	n	%	χ^2 -value	p value
Smoking history	23	4.6	6	8.3	25	11.5	25	8.8	12.07	0.0071
Husband's smoking history	288	60.3	39	54	168	77.1	193	72.3	28.2	<0.0001

*CIN: cervical intraepithelial neoplasia

[†]SD: standard deviation

typing primer (5'- ACACCTGACCTTTCTCAA 0.15 pmol 이 포함된 SNaPshot Multiplex Ready reaction mixture에 primer 증폭 반응을 위하여 더해졌다. Primer 증폭 반응은 96°C 10초간, 25 cycle, 50°C 5초간, 60°C 30초간, 25 cycle로 시행되었다. 반응 물질은 1 unit의 SAP로 37°C 1시간, 72°C에서 15분간 초과된 형광 물질 종결물을 제거하는 데 처리하였다. 증폭 반응물이 포함된 1 ml의 최종 시료를 9 ml의 Hi-Di formamide (ABI)에 첨가하였다.

혼합물은 95°C 5 min 배양 후 냉장에서 5분 후에 전기 영동하여 ABI Prism 3700 DNA analyzer로 분석하였다. 결과는 GeneScan analysis (ABI) 프로그램을 이용하였다.

2. 통계 처리

통계는 SAS 프로그램(Windows version 8.1, Cary, NC)을 이용하여 처리하였고 p value 0.05 이하를 통계적으로 의미 있는 것으로 분석하였다. 분산 분석은 실험군과 대조군의 연속 변수인 나이, 신장, 체중, 신체 질량 지수,

교육 정도, 초경나이, 첫 성교 나이, 자녀 수를 비교하기 위하여 사용하였다.

RASSF1A와 자궁경부 이형성증 환경 위험 요소와의 연관 강도를 보기 위하여 다선형 회귀 분석을 시행하여 95% 신뢰 구간에서 교차비(odds ratios; OR)를 계산하였다. 이 자료 분석에서의 잠재 교란 변수는 나이와 교육 정도였다.

결 과

1. 연구 대상

이번 연구 대상은 Table 1과 같다. 대상의 나이는 20-77세에 분포하였으며, 평균 나이는 대조군에서 45.7세, 실험군 46.2세였다. 대조군에 비하여 자궁경부암군은 낮은 교육 정도와 이른 첫 성접촉 나이, 더 많은 자녀를 가지고 있었고 이들은 대조군, 자궁경부 저등급 위험군, 고등급 위험군, 침윤성암 군 간의 통계적으로 분산의

Table 2. Odds ratio (OR) of RASSF1A A133S polymorphic genotypes on cervical cancer according to cancer lesions*

Variables and categories	Controls (n=641)		Cases (n=705)							
	CIN [†] I (n=85)				CIN II or III (n=268)			Invasive cancer (n=352)		
	n (%)	n (%)	OR (95% CI) [‡]	p-value	n (%)	OR (95% CI)	p-value	n (%)	OR (95% CI)	p-value
Age	641 (100.0)	85 (100.0)	0.9 (0.9-1.0)	<0.0001	268 (100.0)	1.0 (1.0-1.0)	<0.0001	352 (100.0)	1.0 (1.0-1.0)	0.0218
Education level										
High	262 (40.9)	37 (43.5)	1.0 (reference)		85 (31.7)	1.0 (reference)		57 (16.25)	1.0 (reference)	
Middle	314 (49.0)	45 (52.9)	1.3 (0.8-2.1)	0.2848	150 (56.0)	1.7 (1.2-2.3)	0.0021	196 (55.7)	2.7 (1.9-3.8)	<0.0001
Elementary	65 (10.1)	3 (3.5)	0.8 (0.2-3.0)	0.7733	33 (12.3)	2.6 (1.5-4.4)	0.0007	99 (28.1)	5.5 (3.5-8.8)	<0.0001
Genotype										
TT/GT	96 (15.0)	11 (12.9)	1.0 (reference)		36 (13.4)	1.0 (reference)		38 (10.8)	1.0 (reference)	
GG	545 (85.0)	74 (87.1)	1.2 (0.6-2.4)	0.5825	232 (86.6)	1.1 (0.70-1.7)	0.6421	314 (89.2)	1.4 (0.9-2.1)	0.1331
HW [§]	NS	NS			NS			NS		

*Adjusted for age, education level

[†]CIN; cervical intraepithelial neoplasia

[‡]CI; confidence interval

[§]Goodness of fit to the Hardy-Weinberg equilibrium for genotype distribution (NS; not significant)

유의한 차이를 나타내었다.

2. RASSF1A A133S 유전자 다형성증과 자궁경부암 위험도 비교

대조군과 실험군에서 Hardy-Weinberg equilibrium calculation을 시행하였다. Chi-square test (χ^2)를 이용하여 측정된 값이 실험군과 대조군에서 예상된 상대빈도와 비교되어 $p > 0.05$ 를 얻었고 이는 Hardy-Weinberg equilibrium과 일치하였다. Table 2는 자궁경부 병변에 따른 RASSF1A 유전형 분포이다. 대조군에서 개개인의 RASSF1A 동형 T/T 대립유전자, 동형 G/G 대립유전자, 이형 G/T대립 유전자의 빈도는 각각 0.2%, 85.0%, 14.8%였다. 반면 자궁경부암 환자에서의 빈도는 0.2%, 87.9%, 11.9%였다. RASSF1A T/T 혹은 G/T와 비교하여 G/G의 OR (95% CI)는 나이와 교육 정도를 교정한 후에 자궁경부암 환자에서 1.4 (0.9-2.1), 고등급 자궁경부 병변 환자에서 1.1 (0.7-1.7)이었다. 고등 학교 교육을 마친 여성과 비교

하여 중등 및 초등 교육만을 받은 여성의 자궁경부암 OR (95% CI)는 5.5 (3.5-8.8)였다.

Table 3은 조직 병리 결과에 따른 RASSF1A 유전형의 분포이다. T/T나 혹은 G/T 대립 유전자에 비하여 동형 G/G 대립 유전자는 자궁경부암의 발병 가능성이 높았으며, 특히 선암에 비하여(1.0, 0.4-2.3), 편평 세포암에서 위험성이 증가되었다(1.5, 0.9-2.3). Table 4는 진단 시 각 나이별 자궁경부암의 위험도를 나타내었다. RASSF1A TT/GT에 비하여 RASSF1A GG에서 40세 이전에 자궁경부암에 진단되는 조기 자궁경부암의 위험도가 1.6 (1.0-2.6)배 높았다.

RASSF1A GG와 첫 성교 나이가 23세 이전인 조기 성적 접촉이 있었던 여성에서 RASSF1A TT/GT와 23세 이후의 성적접촉을 가진 여성과 비교하여 3.2배의 높은 자궁경부암 발생 가능성을 보였다($p=0.0002$). 또한 RASSF1A GG를 보이는 여성 중 현재 흡연자의 경우는 2.7배의 높은 자궁경부암 발생 빈도를 나타내었다($p=0.0095$) (Table

Table 3. Odds ratio (OR) of RASSF1A A133S polymorphic genotypes on invasive cervical cancer according to histological type*

Genotype	Controls (n=621)	Invasive cancer (n=352)					
		Adenocarcinoma (n=49)				Squamous cell carcinoma (n=303)	
		n (%)	n (%)	OR (95% CI [†])	p-value	n (%)	OR (95% CI [†])
TT/GT	96 (15.1)	7 (14.3)		1.0 (reference)		31 (10.2)	1.0 (reference)
GG	545 (85.0)	42 (85.7)		1.0 (0.4-2.3)	0.9855	272 (89.8)	1.5 (0.9-2.3)
							0.0937

*Adjusted for age and education level

[†]CI; confidence interval

Table 4. Adjusted odds ratio (OR) of RASSF1A A133S polymorphic genotypes on cervical cancer according to the age at the time of diagnosis*

Genotype		Age less than 40 years at diagnosis			Age over 40 years at diagnosis		
		Cases	OR (95% CI [†])	p-value	Cases	OR (95% CI [†])	p-value
Invasive cervical cancer	TT/GT	11	1.0 (reference)		27	1.0 (reference)	
	GG	98	1.5 (0.8-3.0)	0.2236	216	1.2 (0.7-1.9)	0.5280
Total cases	TT/GT	32	1.0 (reference)		53	1.0 (reference)	
	GG	275	1.6 (1.0-2.6)	0.0475	345	1.0 (0.7-1.5)	0.9985

*Adjusted for age, education level

[†]CI; confidence interval

Table 5. Odds ratio (OR) for effects of RASSF1A A133S polymorphism on invasive cervical cancer-main and combined with several environmental factors*

Other characteristics		Total	RASSF1A	
		(n=993)	T/T + G/T (n=38)	G/G (n=314)
		Main effect	Combined effect	
		OR (95% CI) [†]	OR (95% CI)	OR (95% CI)
Age at first intercourse (year)	≥23	1.0 (reference)	1.0 (reference)	1.2 (0.6-2.1)
	<23	2.6 (1.9-3.6)	1.8 (0.8-4.3)	3.2 (1.7-6.0)
Husband's smoking history	Never	1.0 (reference)	1.0 (reference)	1.5 (0.8-3.0)
	Ever	2.0 (1.4-2.7)	2.2 (0.9-5.5)	3.0 (1.5-5.9)
Smoking status	Never	1.0 (reference)	1.0 (reference)	1.2 (0.7-1.9)
	Ever	2.1 (1.1-3.9)	NE [‡]	2.7 (1.3-5.9)

*Adjusted for age, education level

[†]CI: confidence interval[‡]NE: not estimated due to small sample size

5). 40세 미만의 여성에서 23세 이전의 조기 성적 접촉을 가졌고 RASSF1A GG를 보인 여성은 23세 이후의 접촉과 RASSF1A TT/GT를 가진 여성보다 8.4 (2.7-26.1)배 높은 자궁경부암 빈도를 보였다. 그러나 모든 관련성 검사에서는 통계학적으로 의미를 보이지 않았다.

고 찰

본 연구에서는 한국 여성에서 RASSF1A A133S 유전자 다형성증에 대한 자궁경부암의 빈도를 관찰하였다. 2가지의 중요한 소견의 발견이 있었고 하나는 RASSF1A 유전자가 40세 이전의 여성에서 직접 자궁경부암의 발생 빈도를 높일 수 있는 것으로 나타났다. 다른 하나는 RASSF1A 유전형뿐만 아니라 흡연과 첫 성교 나이와 같은 비유전적 인자들도 자궁경부암 위험도에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

최근 연구에 따르면 RASSF1A는 선천적인 cyclin D1의 축적을 억제하는 것으로 알려졌고, 이렇게 RASSF1A에 의해서 유도된 세포 주기 정지는 cyclin D1의 ectopic 발현이나 G1-S 주기 전이 관여 하위 활성 물질인 cyclin A와 E7에 따라 억제가 풀리게 된다는 보고가 있었다.⁶

모세혈관확장성 조화운동 불능(ataxia telangiectasia)은 인간 복합 상염색체 열성 질환 중 하나이며 암이 잘 생

기는 특징을 가지고 있으며,¹¹ 돌연 변이된 모세혈관확장성 조화운동 불능(ataxia telangiectasia mutated)은 phosphatidylinositol 3-kinases의 촉매(catalytic) 도메인과 상동한 carboxyl 말단 부위 서열을 가진 310-kDa 단백질을 만들 수 있으며,¹² 이러한 돌연변이는 RASSF1A의 인산화를 막아 cyclin D1 축적과 세포 주기 진행을 방해할 하지 못하게 된다.⁶

이전의 여러 연구에서 빠른 첫 성교 나이가 자궁경부암의 암화에 매우 중요한 인유두종 바이러스 감염과 연관이 있음을 보고하였다.¹³⁻¹⁵ 최근 Kuzmin 등이 자궁경부암에서 E6와 E7라는 형질전환 유전자를 가진 고위험 인유두종 바이러스의 존재 자체가 RASSF1A 유전자의 불활성에 영향을 미친다고 발표하였고,¹⁶ 또 다른 연구자들은 자궁경부암과 원발성 두정부 편평상피암에서 인유두종 바이러스 16번 감염과 RASSF1A의 프로모터 메틸화가 역비례의 관계를 보이므로 이 두 가지 생물학적 기전이 암화 과정에 동시에 작용할 것이라고 제시하였다.^{17,18} 또한 이번 연구에서는 첫 성접촉 나이가 어느 정도 RASSF1A A133S 유전자 다형성과 관련이 있음을 보여주었다.

일반적으로 선암의 발생기전은 편평상피암의 발생기전과 다소 다른 것으로 여겨진다. 역학적으로 첫 성교의 나이와 성적 파트너의 숫자는 선암 발생에서 비교적 중

요도가 낮으며,¹⁹ 인유두종 바이러스 18번과 관련이 높은 것으로 알려져 있다.²⁰ Cohen 등은 RASSF1A 프로모터 부위 과메틸화가 자궁경부 편평상피암보다 선암에서 흔한 것으로 보고하였고,¹⁷ 본 연구에서는 GG 유전형을 가진 여성이 선암보다 편평자궁경부암의 높은 위험도가 있음을 제시하였다.

RASSF1A 유전자는 자궁경부암의 역학적 위험 요소인 담배 흡연의 발암물질에 특이적으로 영향을 받을 수 있다. 흡연은 디옥시리보핵산(DNA) methyltransferase의 활성을 증가시켜 DNA 메틸화를 만들게 되며,¹⁹ 최근 연구에서 일찍 흡연을 시작하는 것이 RASSF1A 프로모터 과메틸화와 관련이 있는 것으로 보고되었다.¹⁰ 이번 연구에서 저자들은 흡연과 RASSF1A 유전자의 133 코돈 GG 유전형이 자궁경부암 발생에 통계학적으로 높은 관련이 있음을 증명하였다.

이번 연구가 표본수가 많은 단독연구에도 불구하고, 선택 치우침(bias)은 대조군의 공혈자를 선택할 때 일어날 수 있다. 이번 연구에서는 실험군의 선택이 일반 여성을 토대로 선택되지 않았지만 대조군과 마찬가지로 동일병원에서 혈액 표본을 얻을 수 있었다. 그러므로 이번 실험이 다른 일반 실험과 검출 치우침 등의 중요한 차이를 보이지 않을 것이다. 또한 포르말린 고정 조직 등을 사용하면 좋지 않은 속성의 DNA가 PCR 증폭을 억제시켜, 조각의 길이에 관련된 오류를 만들 수 있으므로, DNA 출처와 유전형 분석 기술은 결과에 영향을 줄 수 있으며,²¹ 이번 실험에서는 높은 DNA 품질을 유지하기 위하여 신선 혈액에서 추출하여 사용하였다.

저자들은 RASSF1A A133S 유전자 다형증이 특히 조기 발생의 자궁경부암 생성에 높은 관련이 있음을 보여주었고, 이 위험도는 흡연, 첫 성교의 나이 등의 환경적 요소에 따라서 증가한다는 것을 보여주었다. 앞으로 자궁경부암 암화과정과 환경적 인자와의 복합적인 효과에 유전자 다형성의 역할에 대한 전향적인 연구가 필요할 것이다.

참고문헌

1. Yu MY, Tong JH, Chan PK, Lee TL, Chan MW, Chan AW, et al. Hypermethylation of the tumor suppressor gene

- RASSF1A and frequent concomitant loss of heterozygosity at 3p21 in cervical cancers. *Int J Cancer* 2003; 105: 204-9.
2. Dammann R, Li C, Yoon JH, Chin PL, Bates S, Pfeifer GP. Epigenetic inactivation of a RAS association domain family protein from the lung tumour suppressor locus 3p21.3. *Nat Genet* 2000; 25: 315-9.
3. Burbee DG, Forgacs E, Zochbauer-Muller S, Shivakumar L, Fong K, Gao B, et al. Epigenetic inactivation of RASSF1A in lung and breast cancers and malignant phenotype suppression. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 691-9.
4. Lo KW, Kwong J, Hui AB, Chan SY, To KF, Chan AS, et al. High frequency of promoter hypermethylation of RASSF1A in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Res* 2001; 61: 3877-81.
5. Byun DS, Lee MG, Chae KS, Ryu BG, Chi SG. Frequent epigenetic inactivation of RASSF1A by aberrant promoter hypermethylation in human gastric adenocarcinoma. *Cancer Res* 2001; 61: 7034-8.
6. Shivakumar L, Minna J, Sakamaki T, Pestell R, White MA. The RASSF1A tumor suppressor blocks cell cycle progression and inhibits cyclin D1 accumulation. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 4309-18.
7. Endoh H, Yatabe Y, Shimizu S, Tajima K, Kuwano H, Takahashi T, et al. RASSF1A gene inactivation in non-small cell lung cancer and its clinical implication. *Int J Cancer* 2003; 106: 45-51.
8. Agathangelou A, Honorio S, Macartney DP, Martinez A, Dallol A, Rader J, et al. Methylation associated inactivation of RASSF1A from region 3p21.3 in lung, breast and ovarian tumours. *Oncogene* 2001; 20: 1509-18.
9. Marsit CJ, Kim DH, Liu M, Hinds PW, Wiencke JK, Nelson HH, 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* 2005; 114: 219-23.
10. Kim DH, Kim JS, Ji YI, Shim YM, Kim H, Han J, et al. Hypermethylation of RASSF1A promoter is associated with the age at starting smoking and a poor prognosis in primary non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2003; 63: 3743-6.
11. Lavin MF, Shiloh Y. The genetic defect in ataxia-telangiectasia. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 177-202.
12. Hunter T. When is a lipid kinase not a lipid kinase? When it is a protein kinase. *Cell* 1995; 83: 1-4.
13. Kahn JA, Rosenthal SL, Succop PA, Ho GY, Burk RD. The interval between menarche and age of first sexual intercourse as a risk factor for subsequent HPV infection in adolescent and young adult women. *J Pediatr* 2002; 141: 718-23.
14. Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk RD. Natural history of cervicovaginal papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998; 338: 423-8.
15. Burk RD, Ho GY, Beardsley L, Lempa M, Peters M, Bierman R. Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. *J Infect Dis* 1996; 174: 679-89.
16. Kuzmin I, Liu L, Dammann R, Stanbridge EJ, Wilczynski SP,

- Lerman MI, et al. Inactivation of RAS association domain family 1A gene in cervical carcinomas and the role of human papillomavirus infection. *Cancer Res* 2003; 63: 1888-93.
17. Cohen Y, Singer G, Lavie O, Dong SM, Beller U, Sidransky D. The RASSF1A tumor suppressor gene is commonly inactivated in adenocarcinoma of the uterine cervix. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2981-4.
 18. Dong SM, Sun DI, Benoit NE, Kuzmin I, Lerman MI, Sidransky D. Epigenetic inactivation of RASSF1A in head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 3635-40.
 19. Breiburd F, Ramoz N, Salmon J, Orth G. HLA control in the progression of human papillomavirus infection. *Semin Cancer Biol* 1996; 7: 359-71.
 20. Parker MF, Arroyo GF, Geradts J, Sabichi AL, Park RC, Taylor RR, et al. Molecular characterization of adenocarcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol* 1997; 64: 242-51.
 21. Hildsheim A, Schiffman M, Scott DR, Marti D, Kissner T, Sherman ME, et al. Human leukocyte antigen class I/II alleles and development of human papillomavirus-related cervical neoplasia: Results from a case-control study conducted in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 1035-41.

Ras association domain family 1A (RASSF1A) Ala133Ser polymorphism is associated with cervical cancer in Korean women

Keun Ho Lee¹, Jae Woong Sull², Jung Yong Park², Ji Eun Yun², Hai Rim Shin³, Heechoul Ohr², Jong Eun Lee², Chan Joo Kim¹, Sun Ha Jee², Jong Sup Park¹

Department of Obstetrics and Gynecology, The Catholic University of Korea College of Medicine¹,

Department of Preventive Medicine, Yonsei University College of Medicine²,

Center for Cancer Prevention and Detection, National Cancer Center³, Seoul, Korea

Objective : The ras association domain family 1A (RASSF1A) gene plays an important part in carcinogenesis by inactivation via promoter hypermethylation in several cancers. We aimed to examine the effect of the RASSF1A Ala133Ser polymorphism on cervical carcinogenesis in reference to environmental factors, such as smoking and age at first sexual intercourse.

Methods : Seven hundred five patients who were diagnosed with cervical neoplasia and who had a positive results for human papillomavirus were enrolled to experimental group, and 641 of normal healthy women were enrolled as controls. All of the subjects were genotyped using the SNaPshot single base primer extension assay.

Results : Compared with RASSF1A TT/GT, the odds ratio (95% confidence interval) for RASSF1A GG was 1.4 (0.9-2.1) for invasive cervical cancer and 1.1 (0.7-1.7) for cervical intraepithelial neoplasia (CIN) II or III. The risks for cervical cancer were higher in patients under 40 years old at diagnosis (1.6, 1.0-2.6), than in patients over 40 years old at diagnosis (1.0, 0.7-1.5). Women with RASSF1A GG who currently smoke had a 2.7 (1.3-5.9) times higher risk of cervical cancer. Women with RASSF1A GG who had an early age of first intercourse, as compared with RASSF1A TT/GT, were also at increased risk.

Conclusion : The RASSF1A Ala133Ser polymorphism is associated with a higher risk of cervical cancer and particularly with an early onset of cervical carcinogenesis.

Key Words : Cervical cancer, RASSF1A, Polymorphism, Smoking, Coitus