대부종콜포회지 제13권 제3호 2002
Vol. 13, No. 3, September, 2002

인유두종 바이러스 16형 및 18형 감염이 동반된 자궁경부암 환자의 p53 유전자 다형성

인제대학교 의과대학 부산백병원 산부인과학교실
이병준 · 정대훈 · 이경복 · 성문수 · 김기태

The p53 DNA Polymorphism of Cervical Cancer Patients with Human Papillomavirus 16/18 Infection

Byeong Joon Lee, M.D., Dae Hoon Jeong, M.D., Kyung Bok Lee, M.D.,
Moon Soo Sung, M.D., Ki Tae Kim, M.D.
Department of Obstetrics and Gynecology, Busan Paik Hospital, College of Medicine, InJe University, Busan, Korea

Objective : To investigate the correlation between p53 DNA polymorphism and cervical cancers with HPV infection and to clarify whether p53 DNA polymorphism behave as a host risk factor of cervical carcinogenesis in Korean population.

Methods : For detection of HPV infection, nested PCR targeting at HPV L1 region was carried out after DNA precipitation from 112 normal control and 299 cervical intraepithelial neoplasm and invasive cancer patients. In the case of positive to HPV L1 region, HPV 16/18 infection was analyzed by HPV 16/18 specific nested PCR. To examine p53 genotype codon 72 polymorphism (p53 genotype), p53 exon 4 region amplified, and then amplified products were digested with *Acc* Ⅱ restriction enzyme. According to restriction fragment, p53 genotype was classified into homozygous p53 arginine (p53Arg), homozygous p53 proline (p53Pro) and heterozygous p53 arginine/proline (p53Het).

Results : 1. The incidence of HPV infection increased as it developed into cancer from normal in cervix, but there was no statistical significance ($p>0.05$).

2. The incidence of HPV 16/18 infection was much higher in HGSIL and invasive cancer than in LGSIL and control ($p<0.05$).

3. The distribution of p53 Arg genotype did not have any significant differences in the normal control, CIN and invasive cancer patients ($P>0.05$).

4. In the normal control, CIN and invasive cancer patients with HPV infection and HPV 16/18 infection, the distribution of p53 Arg did not have any significant differences ($p>0.05$).

Conclusion : p53 genotype did not act as a host risk factor in cervical carcinogenesis in Korean population. But more researches on the p53 genotype to HPV E6 variants will be needed to know the exact meanings of p53 genotype.

Key Words **:** p53 polymorphism, HPV, Cervical cancer

서 론

우리 나라 여성에서 발생하는 악성종양 중에서 가장 높은 빈도를 차지하였던 자궁경부암은 조기검진의 보편화로 인하여 점차 감소하고 있는 추세이지만, 현재에도 1년에 약 5000여명의 새로운 자궁경부암 환자가 산부인과 부인종양위원회에 보고되고 있다.[1] 인유두종 바이러스(Human Papillomavirus, HPV)는 현재까지 약

책임저자 : 김기태

* 이 논문은 2001학년도 인제대학교 학술연구조성비 보조에 의한 것임.

120종류 이상의 유전자형이 보고되었으며, 그 중 적어도 36종류 이상이 생식기 감염과 관련이 있는 것으로 밝혀져 있고, 성생활을 통하여 생식기관에 감염을 유발하고 전파되며, 자궁경부암 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.[2,3] HPV 유전자형 중 16형, 18형, 31형, 33형, 35형, 45형, 52b형, 56형, 그리고 58형 등은 고등급 편평상피내병변(High-grade Squamous Intraepithelial lesion, HGSIL)과 침윤성암(Invasive cancer)에서 주로 검출되어 고위험성 HPV 유전자형으로 분류하고 있다.[4-10]

HPV 유전자를 편평상피세포에 주입하여 유전자를 과다 발현시킨 실험에서 세포의 암성화(malignant tranformation)가 유도되지는 않았는데, 이는 암성화 과정에서 HPV의 단독 작용보다는 체세포 내의 종양유전자 혹은 종양억제유전자와의 상호작용 결과로 암성화가 유발되는 것으로 생각되었다.[11] HPV는 두개의 대표적 종양단백질(oncoprotein)인 E6 및 E7을 생성하며, E6와 E7 종양단백질은 HPV의 E1 단백질에 의하여 그 발현이 억제되나, 오랜 감염 기간을 통하여 HPV 유전자가 숙주의 체세포로 유입되는 과정 중에 E1 유전자의 손상이 일어나 E6 및 E7 종양단백질 발현이 증가되는 것으로 밝혀져 있다.[12] E6과 E7 종양단백질은 체세포의 대표적 종양억제단백질인 p53과 pRb와 각각 결합하여, 그 기능을 상실하게 함으로써 자궁경부암을 유발한다고 알려져 있다.[13]

p53은 세포의 성장, 분화, 고사, 그리고 유전자의 복제오류 수정과 같은 종양억제기능을 담당하고 있으며, p53 기능의 소실은 악성 종양으로 진행되는데 중요한 분자생물학적 의미를 갖는다.[18-22] 인체에서 발생한 악성종양에서 p53유전자의 변이가 약 50% 정도에서 검출되며,[22] p53 유전자 변이는 단백질의 구조를 변화시키고, 변화된 p53 단백질은 면역화학적 방법으로 관찰하면 종양세포에서 높게 발현되며, 종양세포내 p53 단백질의 발현정도는 p53 유전자 변이와 더불어 불량한 경과를 예측하는 인자로서 유용하게 이용되고 있다.[23] 그러나 자궁경부암은 p53 유전자 변이가 10-20% 정도로 낮게 검출되어,[24] p53 단백질 발현이 낮은 대표적인 종양으로 알려져 있다.[25] 즉, 자궁경부암은 p53 유전자 변이에 의한 종양억제기능의 소실보다는 HPV와 p53 유전자형과 같은 숙주인자와의 상호관계에 의한 종양억제기능의 상실이 보다 중요하게 작용할 것으로 생각할 수 있다.

사람은 p53 유전자 내 72번째 아미노산 위치에 3가지 형태의 유전적 다형성(이하 p53 유전자형으로 명함)을 가지며, 72번째 아미노산 종류에 따라 p53 유전자형은 동형접합성 arginine (homozygosity of arginine, p53Arg) 유전자형, 동형접합성 proline (homozygosity of proline, p53Pro) 유전자형, 그리고 각 allele가 각각 arginine과 proline로 구성된 이형접합성 유전자형(heterozygosity of arginine & proline, p53Het)으로 분류되고 있다.[26,27] 1998년 Storey 등[28]은 p53Arg 유전자형을 가지는 경우에 HPV 16형과 18형 (이하 16/18형으로 명함)의 E6 종양단백질에 의한 p53 단백질의 분해정도가 다른 p53 유전자형을 가지는 경우보다 높다는 것을 실험적으로 증명하였고, 또한 p53Arg 유전자인 경우에 고위험성 HPV 유전자형의 감염에 의한 자궁경부암 혹은 피부암의 발생위험도가 다른 p53 유전자형인 경우보다 7배나 높다는 결과를 보고하였다. 즉, Story 등은 바이러스 인자뿐만 아니라 사람의 고유한 p53 유전자형이 자궁경부암 발생과 진행에 영향을 미치는 중요한 숙주인자로서 작용한다고 주장하였다.[28-31] 이후 자궁경부암의 발생과 진행에 관계하는 숙주인자로서 p53 유전자형이 갖는 의의에 대하여 여러 나라의 인종을 대상으로 광범위한 역학적 연구가 시도되었으나, 각기 상반된 결과들이 보고되었으며, 이런 상반된 결과는 인종적 차이, HPV 유전자형과 E6 변형(variants)의 차이, p53 유전자의 변이 여부와 구조의 차이 때문인 것으로 생각되었다.[32-35]

저자들은 한국 여성을 대상으로 자궁경부의 편평상피내병변과 침윤성암 환자에서 HPV 감염빈도, HPV 16/18형 검출빈도, 그리고 p53 유전자형을 연구하여, p53 유전자형이 자궁경부의 종양발생 과정에서 숙주의 위험인자로서 갖는 의의를 규명하고자 본 연구를 시도하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

1994년 3월부터 2000년 6월까지 인제대학교 부산백병원 산부인과에 내원한 환자 중 자궁경부의 세포학적 검사, 조직학적 검사 혹은 외과적 치료를 받은 299명의 환자를 연구 대상으로 하였고, 같은 기간 동안에 건강검진 목적으로 부산백병원 건강검진센터를 방문하여 세포학적 검사에서 정상으로 판정 받은 112명을

대조군으로 이용하여, 총 411명을 대상으로 연구하였다. 모든 연구 대상은 세포학적 및 조직학적 검사결과를 기준으로 정상군, 저등급 상피내병변(low-grade squamous intraepithelial lesion, LGSIL), 고등급 상피내병변(high-grade squamous intraepithelial lesion, HGSIL), 그리고 침윤성암(invasive carcinoma, CA)으로 분류하였다. HPV 연관성 병변(HPV related change)과 1등급 상피내종양(cervical intraepithelial neoplasia I, CIN I)은 LGSIL로 분류하였고, 2등급, 3등급 CIN과 상피내암(carcinoma in situ)은 HGSIL로 분류하였으며, 조직학적 유형, 분화도, 병기의 구분 없이 간질로 침윤을 보이는 경우는 침윤성암으로 분류하였다.

2. DNA 추출

HPV 감염과 HPV 16/18형의 감염여부, 그리고 p53 유전자형의 조사는 자궁경부의 탈락세포 혹은 파라핀 블록에서 추출한 DNA을 이용하였다. 추출된 DNA는 광비색계를 이용하여 순도와 농도를 검사하였다.

1) 자궁경부 탈락세포에서 DNA 추출

자궁경부에서 세포를 면봉으로 채취하여 1 mL의 phosphate buffered saline (PBS pH 7.4)이 담겨져 있는 15 mL 시험관에 옮겨 담았다. 면봉이 담겨져 있는 시험관을 진탕기로 2분간 흔들어 세포를 탈락시켰으며, 탈락된 세포를 함유한 PBS를 microtube에 옮겨 3000 xg에서 5분간 원심분리한 후 상층액을 제거하였다. 분리된 세포침전물은 PBS로 2회 세척한 후, 300 μl의 DNA 소화액(lysis buffer, 50 mM Tris-HCl pH 8.5, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0.1% sodium dodecyl sulfate)을 첨가하여 혼합하였다. 이후 100 μg/mL 농도의 proteinase K (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany)를 첨가하였고, 세포가 완전히 용해될 때까지 55℃에서 반응시켰으며, 95℃에서 10분간 가열하여 proteinase K를 불활성화 시켰다. 세포 용해액은 동량의 phenol/chloroform을 첨가하여 불순물을 제거하였으며 isopropanol을 가하여 DNA를 추출하였다.

2) 파라핀 블록에서 DNA 추출

자궁경부 조직을 포함하는 파라핀 블록 중에서 H&E 염색하여 현미경으로 검사하였고, 보관 상태가 양호하고 자궁경부의 상피층 혹은 병변이 충분히 포함되어 있는 파라핀 블록을 선정하였다. 선택한 파라핀 블록으로부터 7 μm 두께로 조직의 크기에 따라 5~15개 절편을 취하여 유리 슬라이드에 부착시켰다. 절편이 붙어있는 슬라이드는 60℃에서 1시간 가열한 후 100% Xylene에 10분간 2회 반응시켜 파라핀을 제거하였고, 이후 슬라이드는 100%, 95% 에탄올에 세척한 후 공기 중에 건조시켰다. 현미경으로 관찰하여 25-gauge 주사침으로 주위 간질조직의 혼합을 최소화하면서 상피층 혹은 병변부위 조직을 분리하였고, 제거된 조직은 DNA 추출 전까지 microtube에 넣어 영하 20℃에서 보관하였다. 분리된 조직은 절편 당 30 l의 DNA 소화액과 200 μg/mL 농도의 proteinase K를 첨가하여 조직이 충분히 용해될 때까지 반응시켰다. 이후 세포 용해액은 동량의 phenol/chloroform을 첨가하여 불순물을 제거하였으며 isopropanol을 가하여 DNA를 추출하였다.

3. HPV 유전자 검출 및 HPV 16/18형 검사

1) HPV 감염 여부 조사

추출된 DNA를 대상으로 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 시행하여 HPV 감염여부를 조사하였다. 40여종의 HPV 유전자가 공통된 염기서열을 가지는 L1 open reading frame (ORF) 영역을 표적으로 MY09/MY11[38]와 GP5/LIC[39] 시발체 조합을 이용하였다. HPV 감염여부는 민감성과 특이성을 높이기 위하여 nested PCR 방법을 이용하였으며, MY09/MY11 시발체 조합으로 1차 PCR을 수행한 후 반응이 끝난 PCR 산물에서 2 μl를 취하여 GP5/LIC 시발체 조합으로 이차 PCR을 시행하였고, 이 검사방법은 1 fg/mL 이상의 민감도를 가진다.

PCR 반응액은 20 μl 총 부피에 1x PCR buffer (20 mM Tris-HCl pH 8.4, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl2), 200 μM deoxynucleotide triphosphate (dNTPs, Pharmacia, Uppsala, Sweden), 5 pM primers(제노텍, 대전, 한국), 1 Unit Taq DNA Polymerase (Promega, Madison, WI, USA), 200 ng DNA로 구성하였다. PCR반응은 Thermal Cycler (PTC-200, MJ Research, Watertown, MT, USA)을 이용하여 95℃에서 30초, 시발체 조합에 가장 적합한 annealing 온도에서 30초, 72℃에서 30초 주기로 총 40회 반복한 후 최종적으로 72℃에서 5분간 반응시켰다(Table 1).

Table 1. Oligonucleotide PCR primers for detection & genotyping of HPV and p53 codon 72 polymorphism

Name	Type	Sequence (5' to 3')	TA (℃)	Location
MY11	sense	GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG	48	6584-6603
MY09	antisense	CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC	48	7015-7035
GP5	sense	TTT GTT ACT GTT GTT GAT ACT AC	52	6625-6647
L1C	antisense	GGA TCT TCT TTA GGT GCT	52	6939-6956
18E2	sense	CAA CAT AGC TGG GCA CTA TAG A	50	501-522
18ER2	antisense	ACA TAC ACA ACA TTG TGT GAC G	50	795-773
16E3	sense	TCG ATG TAT GTC TTG TTG CAG	50	505-525
16ER3	antisense	GGT TAC AAT ATT GTA ATG GGC	50	729-708
P53U	sense	GGG ACT GAC TTT CTG CTC TTG	50	11877-11897
P53D	antisense	TGA GGG TGT GAT GGG ATG GAT	50	12519-12499
P534EU	sense	TTC ACC CAT CTA CAG TCC CCC TTG	57	12006-12029
P534ED	antisense	GGT GTG ATG GGA TGG ATA AAA GCC	57	12515-12492

T_A: annealing temperature, M: A plus C, R: A plus G.
W: A plus T, Y: C plus T.

최종 PCR 산물은 1.5% agarose gel (Promega, Medison, WI, USA)에서 전기영동하여 분리하였으며, gel은 ethidium bromide로 염색하여 자외선 조명에서 증폭된 밴드의 여부를 확인하여 감염여부를 조사하였다. HPV L1 ORF 유전자는 MY09/MY11 시발체 조합으로 일차 PCR 반응에서는 451 bp 크기의 밴드로 증폭되며, MY09/MY11 시발체 조합으로 증폭되지 않았던 검체는 GP5/L1C 시발체 조합으로 이차 PCR 과정을 수행하여 254 bp 크기의 밴드를 확인하여 HPV 감염여부를 조사하였다(Fig. 1).

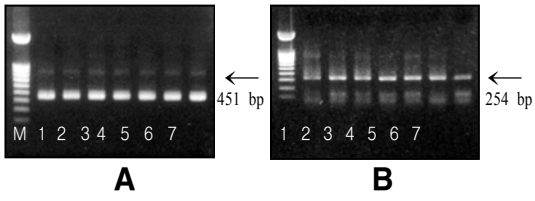

Fig. 1. Electrophoresis of HPV L1 consensus primer directs PCR products on 1.5% agarose gel. A; PCR products with MY09/MY11 primers reveal 451 bp size band, B; PCR products with GP05/L1C primers show 254 bp size band. M, 100 bp. ladder-size marker; Lane 1, HeLa cells; Lane 2, Caski cells, Lane 3-7, examples of patients with cervical cancer.

2) HPV 16형/18형의 조사

HPV의 L1 ORF 영역에 대한 PCR 검사에서 HPV 유전자가 검출된 경우는 HPV 16/18형의 감염 여부를 조사하였다. GeneBank database에서 검색하여 HPV 16형(Accession Number, K02718)과 18형(Accession Number, X04773)의 염기서열 정보를 분석하여 E6와 E7 영역을 표적으로 하는 HPV 16/18형에 각각 특이성을 갖는 16E3/16ER3과 18E2/18ER2 시발체 조합을 고안하여 시발체를 제조 의뢰(제노텍, 대전, 한국)하였다(Table 1). HPV 16/18형 검출을 위한 PCR 반응은 L1 ORF 영역의 PCR 반응에 사용한 동일한 조건과 조성을 이용하였다. 최종 PCR 산물에서 2 μl를 취하여 1.5% agarose gel에서 전기영동으로 분리하였다. 16E3/16ER3 시발체 조합을 이용하여 225 bp 크기의 밴드가 나타나면 HPV 16형 유전자가 존재하는 것으로 판정하였으며, 18E2/18ER2 시발체를 이용하여 295 bp 크기의 밴드가 증폭되면 HPV 18형이 존재하는 것으로 판정하였다(Fig. 2).

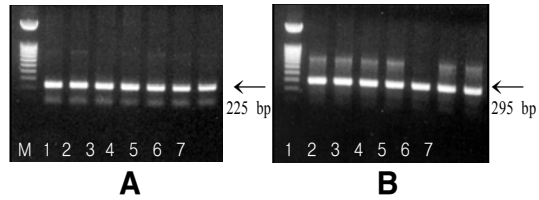

Fig. 2. PCR detection of HPV type 16 & type 18 using type-specific primers. A; Representative examples of HPV type 16 have 225 bp size band. B; Representative examples of HPV type 18 have 295 bp size band. M, 100 bp. ladder-size marker; Lane 1, Positive controls (A; Caski cells, B; HeLa cells); Lane 2-7, examples of patients with cervical cancer.

3) HPV 검사의 양성 및 음성 대조군

HPV 16형의 PCR 검출을 위한 양성대조는 HPV 16

형에 감염된 Caski 세포주를 배양하여 Caski 세포에서 추출한 DNA를 이용하였고, HPV 18형의 양성대조는 HPV 18형 유전자가 융합되어 있는 HeLa 세포주를 배양하여 HeLa 세포에서 추출한 DNA를 사용하였다. 음성 대조는 HPV 감염이 없다고 증명된 정상 성인 남자의 혈액에서 추출한 DNA와 증류수를 이용하였다.

4. p53 유전자형 조사

p53 유전자 codon 72 다형성을 조사하기 위하여 codon 72가 위치하는 exon 4 영역을 PCR로 증폭시켰고, 이후 *Acc* Ⅱ (Promega, Medison, WI, USA) 제한효소로 절단하여 절단되는 절편의 크기와 양상을 비교하는 Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) 방법을 이용하여 p53 유전자형을 조사하였다. p53 유전자 exon 4 영역의 증폭은 p53U/p53D 시발체 조합으로 일차 PCR을 시행한 후, 일차 PCR 산물에서 2 μl를 취하여 p534EU/p534ED 시발체 조합으로 이차 PCR을 시행하였다(Table 1). PCR 과정이 끝난 후 p53 유전자의 exon 4 영역의 증폭 여부는 최종 PCR 산물에서 2 μl를 취[illegible]에서 전기영동으로 분리하여 확

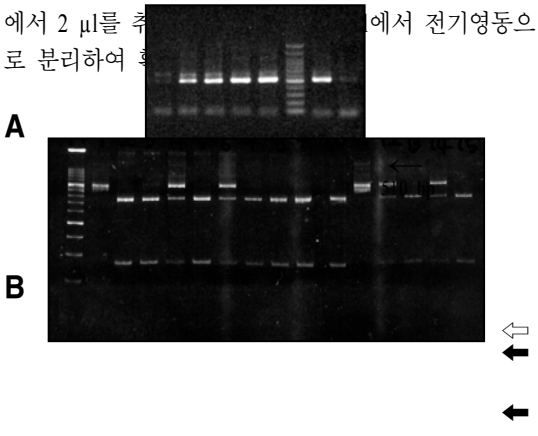

Fig. 3. PCR and RFLP analysis for detection of the p53 gene polymorphism at codon 72. A: PCR products amplified with p534EU/p534ED primers (510 bp). B: PCR products are digested with Acc II enzyme, and the products are subjected to electrophoresis in 7.5% polyacrylamide gel. The arginine allele had a single Acc II recognition site (CG/CG) shows two bands of 376 + 134 bp (closed arrow), but proline allele reveals single band of 510 bp (open arrow). Heterozygote had both allele of arginine and proline reveals three bands. A, arginine homozygote; H, heterozygote; P, proline homozygote; M, 100 bp ladder-size marker; Lane 1~5, representative samples of patients with cervical cancer.

PCR 과정이 끝난 최종산물은 동량의 chloroform을 첨가하여 불순물을 제거하였고, 이후 glass milk (BIO-101, La Jolla, CA, USA)를 이용하여 PCR 산물을 정제하였다. PCR 산물 5 μl당 1 Unit의 *Acc* Ⅱ 제한효소를 첨가하여 37℃에서 2시간 동안 반응시켰다. 제한효소 처리가 끝난 반응액은 7.5% polyacrylamide gel에서 분리하여 절단된 양상을 비교하여 p53 유전자형을 조사하였다. *Acc* Ⅱ 제한 효소로 처리하면 염기서열 CG/CG를 포함하는 p53Arg 유전자형은 376 bp와 134 bp 크기의 두개의 밴드를 나타내고, CCCG 염기서열을 갖는 p53Pro 유전자형은 *Acc* Ⅱ 제한효소에 절단되지 않아 510 bp 크기의 밴드만이 관찰되나, p53Arg과 p53Pro의 두개의 이형접합성 allele로 구성된 p53Het 유전자형은 510 bp, 376 bp 그리고 134 bp 크기의 3개 밴드로 보였다(Fig. 3).

5. 통계학적 분석

p53 유전자형의 분포는 SAS (SAS Institute Inc., USA, version 6.21) 프로그램을 이용하여 X^2-test로 비교 분석하였으며, odd 값(Odds ratio, OR)과 95% 신뢰구간(confidence intervals, CI)을 계산하였다. 유의 수준은 p값이 0.05 이하인 경우로 하였다.

결 과

1. 연구 대상의 구성

299예의 연구 대상 환자 평균 연령은 46.5±11.7였다. 세포학적 검사와 조직학적 검사 결과지를 검토한 결과 LGSIL은 39예였으며, HGSIL은 85예였다. 자궁경부암은 175예였으며, 조직학적으로는 편평상피암이 157예, 선암이 15예, 편평상피선암이 3예였다.

2. HPV 유전자 및 16형/18형의 검출 빈도

1) HPV 유전자의 검출 빈도

대조군 112예를 포함한 총 411예를 대상으로 HPV L1 영역을 표적으로 PCR을 시행한 결과 306예(74.5%)에서 HPV L1 유전자가 검출되었다. 병변의 진행정도에 따른 HPV L1 유전자의 검출 빈도는 대조군 112예 중 53예(47.3%), LGSIL 39예 중 27예(69.2%), HGSIL 85예 중 65예(76.5%), 침윤성암 175예 중 161예(92.0%) 검출되었다(Table 2). 침윤성암으로 진행될수록 HPV L1 유전자의 검출 빈도가 증가하였으나 유의성은 없었다(p=0.0621).

Table 2. PCR results obtained with L1 consensus primer sets MY09/MY11 and GP05/L1C for HPV detection

	CONTROL	LGSIL	HGSIL	CA	TOTAL
NEGATIVE	59 (52.7%)	12 (30.8%)	20 (23.5%)	14 (8.0%)	105 (25.5%)
POSITIVE	53 (47.3%)	27 (69.2%)	65 (76.5%)	161 (92.0%)	306 (74.5%)
TOTAL	112	39	85	175	411

LGSIL: low grade squamous intraepithelial lesion.
HGSIL: high grade squamous intraepithelial lesion.
CA: invasive carcinoma.
p value<0.05.
Numbers in parenthesis represent relative frequencies.

2) HPV 16형/18형의 검출 빈도

HPV L1 유전자가 검출된 306예 중 HPV 16형과 18형이 118예(38.8%)에서 검출되었다. HPV 16형과 18형은 대조군에서 2예(2/53, 4.6%), LGSIL 군에서 3예(3/27, 11.7%), HGSIL군에서 21예(21/65, 32.5%), 침윤성암에서 92예(92/161, 57.1%) 검출되어 침윤성암으로 진행될수록 HPV 16형과 18형의 검출 빈도가 유의하게 증가되었다(Table 3) (p=0.0215).

3. p53 유전자형 빈도 및 분포

총 411예의 p53 유전자형의 빈도를 조사한 결과 p53Arg 유전자형은 178예(43.3%)로 가장 많았으며, p53Het 유전자형은 135예(32.0%)였으며, p53Pro 유전자형은 98예(24.7%)로 조사되었다.

1) 자궁경부 병변에 따른 p53 유전자형의 분포

병변에 따른 p53 유전자형의 빈도는 112예의 정상 대조군에서 p53Arg 유전자형이 47예(47/112, 41.8%), p53Het 유전자형은 41예(41/112, 36.8%), p53Pro 유전자형은 24예(24/112, 21.4%)로 조사되었다. 침윤성암에서 p53Arg 유전자형은 76예(76/175, 43.6%), p53Het 유전자형은 58예(58/175, 32.9%), p53Pro 유전자형은 41예(41/175, 23.5%)로 p53Arg 유전자형이 가장 높은 빈도로 조사되었다. 침윤성암에서 p53Arg 유전자형의 빈도가 높았으나 양군 사이에서 유의한 분포의 차이는 찾을 수 없었다(Table 4) (p>0.05).

2) HPV 감염에 따른 p53 유전자형의 분포

HPV 감염과 동반된 p53 유전자형의 분포는 총 306예 중 p53Arg 유전자형은 136예(44.5%), p53Het 유전자형은 98예(32.0%) 그리고 p53Pro 유전자형은 72예(23.5%)로 조사되어 HPV 감염 여부와 p53 유전자형의 분포와는 통계적 유의성이 없었다(p>0.05). 또한 HPV 유전자가 검출된 환자군에 대한 p53 유전자형의 분포도 유의한 차이를 찾을 수 없었다(Table 5) (p>0.05).

3) HPV 16/18형 감염에 따른 p53 유전자형의 분포

HPV 16/18형에 감염된 총 118예 중 LGSIL 및 HGSIL 군에서 p53Arg 유전자형 분포에 유의한 연관성은 찾을 수 없었으며, 침윤성암에서 p53Arg 유전자형은 41예(44.8%), p53Het 유전자형이 28예(30.0%), p53Pro 유전자형은 23예(25.2%)로 조사되어 HPV 16/18형의 감염이 동반된 침윤성암에서도 p53 유전자형의 분포는 유의한 차이가 없었다(p>0.05). 또한 침윤성암 군의 p53Arg 유전자형 분포는 HPV 감염 여부와 상관없는 대조군과 비교하여도 연관성이 없었다(Table 6) (p>0.05).

Table 3. PCR results obtained with type-specific E6/E7 primer sets of 16E3/16ER3 and 18E2/18E2R for detection of HPV type 16 & 18, respectively

	CONTROL	LGSIL	HGSIL	CA	TOTAL
NEGATIVE	51 (95.4%)	24 (88.3%)	44 (67.5%)	69 (42.9%)	188 (61.2%)
POSITIVE	2 (4.6%)	3 (11.7%)	21 (32.5%)[a]	92 (57.1%)[a]	118 (38.8%)
TOTAL	53	27	65	161	306

LGSIL: low grade squamous intraepithelial lesion.
HGSIL: high grade squamous intraepithelial lesion.
CA: invasive carcinoma.
p value<0.05.
Numbers in parenthesis represent relative frequencies.

Table 4. Distribution and incidence of p53 codon 72 genotypes in patients and controls irrespective of HPV infection

	CONTROL	LGSIL	HGSIL	CA	TOTAL
p53Arg	47 (41.8%)	17 (43.7%)	38 (44.2%)	76 (43.6%)	178 (43.3%)
p53Het	41 (36.8%)	11 (27.7%)	26 (30.4%)	58 (32.9%)	135 (32.0%)
p53Pro	24 (21.4%)	11 (28.6%)	21 (25.4%)	41 (23.5%)	98 (24.7%)
TOTAL	112	39	85	175	411

LGSIL: low grade squamous intraepithelial lesion.
HGSIL: high grade squamous intraepithelial lesion.
CA: invasive carcinoma.
p53Arg: arginine homozygote.
p53Het: heterozygote.
p53Pro: proline homozygote.
p value<0.05.
Numbers in parenthesis represent relative frequencies.

Table 5. Distribution of p53 codon 72 genotypes in patients and controls associated with HPV infection

	CONTROL	LGSIL	HGSIL	CA	TOTAL
p53Arg	22 (42.1%)	11 (42.8%)	28 (43.4%)	75 (46.8%)	136 (44.5%)
p53Het	15 (28.4%)	9 (31.6%)	22 (33.2%)	52 (31.9%)	98 (32.0%)
p53Pro	16 (29.5%)	7 (25.6%)	15 (23.5%)	34 (21.3%)	72 (23.5%)
TOTAL	53	27	65	161	306

LGSIL: low grade squamous intraepithelial lesion.
HGSIL: high grade squamous intraepithelial lesion.
CA: invasive carcinoma.
p53Arg: arginine homozygote.
p53Het: heterozygote.
p53Pro: proline homozygote.
p value<0.05.
Numbers in parenthesis represent relative frequencies.

Table 6. Distribution and incidence of p53 codon 72 genotypes in patients and controls associated with HPV 16/18 infection

	CONTROL	LGSIL	HGSIL	CA	TOTAL
p53Arg	1 (50.0%)	1 (33.3%)	9 (41.8%)	41 (44.8%)	52 (43.0%)
p53Het	1 (50.0%)	1 (33.3%)	7 (34.6%)	28 (30.0%)	37 (32.3%)
p53Pro	0 (0.0%)	1 (33.3%)	5 (23.6%)	23 (25.2%)	29 (24.7%)
TOTAL	2	3	21	92	118

LGSIL: low grade squamous intraepithelial lesion.
HGSIL: high grade squamous intraepithelial lesion.
CA: invasive carcinoma.
p53Arg: arginine homozygote.
p53Het: heterozygote.
p53Pro: proline homozygote.
p value<0.05.
Numbers in parenthesis represent relative frequencies.

고 찰

인체에 발생하는 악성종양에서 p53 유전자 변이가 약 50% 정도에서 발견되며, 이는 p53이 종양발생에 있어 중추적 역할을 담당하는 것을 반증하는 결과이다.[22] p53의 종양억제기능은 p53이 세포의 성장과 고사에 관계하는 유전자인 waf-1/p27,[18] cyclin G,[19] *gadd45*[20] 등의 전사를 증가시키고, p53에 의하여 증가된 각 인자들이 DNA의 복제오류를 복구하고 세포의 성장과 고사를 조절하는 기능을 담당하여 p53이 종양억제기능을 유지하는 것으로 알려져 있다.[21] p53 유전자 변이는 단백질 발현의 감소와 소실을 초래하여 종양억제기능을 감소 혹은 상실시키며, 종양억제기능의 소실은 이차적으로 체세포 유전자의 변이를 가속화시키며, 이것이 축적되어 악성종양을 일으킨다는 기전이 제시되어 있다.[22] p53의 종양억제기능의 소실은 p53 유전자 자체의 변이에 의한 기전 이외에도 p53 단백질이 종양성 바이러스와 상호작용을 통하여 소실되는 기전이 제기되었으며, 특히 자궁경부암에 있어서는 종양성 바이러스인 HPV에 의한 p53 기능 소실이 암성화의 주된 기전으로 생각되고 있다.[14]

HPV는 현재까지 약 120여종의 유전자형이 규명되어 있으며,[3,8,9] 침윤성 암과 고등급 상피내종양에서 주로 발견되는 HPV는 고위험성 HPV로 분류하며, 특히 HPV 16/18형이 자궁경부암을 유발하는 대표적인 고위험성 유전자형으로 알려져 있다.[2,3,6,8-10] 한국인을 대상으로 한 연구에서는 38명의 자궁경부암 환자 중 HPV 16형이 15예(36.6%), 58형이 6예(14.6%), 18형이 4예(9.8%)로 검출되었으며, 또한 31형, 33형, 52b형도 각각 9.8%, 7.3%, 4.9%로 검출되었다.[5] 본 연구에서도 L1 유전자 영역에서 HPV 감염 여부를 조사한 결과 175예의 침윤성암 환자 중 161예에서 HPV 유전자가 검출되었으며, 16/18형은 92예(57.1%, 92/161)에서 검출되어 16형과 18형 이외의 다른 유전자형의 HPV가 높은 빈도로 존재할 것으로 생각되었다. 저등급 상피내종양에서 침윤성암으로 진행될수록 HPV 감염빈도가 증가되었으며, 또한 16/18형의 검출 빈도가 HGSIL 병변과 침윤성암에서 대조군과 LGSIL보다 유의하게 높은 빈도로 검출되어(Table 2 & 3), HPV 16/18형 감염이 자궁경부암의 중요한 원인인자로 작용하는 것을 본 연구에서 확인할 수 있었다.

HPV는 두 가지 종류의 종양단백질인 E6와 E7을 생성하고, 바이러스성 E6, E7 종양단백질은 각각 종양억제단백질인 p53과 pRb와 결합하여 그 기능을 상실하게 함으로써, HPV에 감염된 세포는 종양억제유전자의 변이 없이도 종양억제기능이 소실되어 암으로 진행된다고 알려져 있다.[16,28] E6 종양단백질은 p53 단백질과 결합하여 ubiquitin 경로를 통하여 p53 단백질 분해를 유도하고,[17] 이는 체세포 유전자의 복구와 안정성에 관여하는 p53의 종양억제 기능이 소실되는 결과를 초래한다.

Storey 등[28]의 p53Arg 유전자형에서 다른 p53 유전자형에 비하여 HPV 16/18형의 E6 종양단백질에 의한 p53 단백질이 보다 빨리 분해되며, p53Arg 유전자형을 가지는 사람에서 HPV 연관성 자궁경부암의 발생위험이 7배 높다는 보고는 많은 논란을 야기하였다. 유전자의 변이에 의하지 않고 숙주의 고유한 p53 유전자적 특성이 HPV의 종양단백질과 작용하여 종양발생의 위험도에 중대한 영향을 미친다는 결과는 향후 p53 유전자형 검사와 HPV 감염 여부를 조사함으로써 자궁경부암의 발생위험도를 산정할 수 있으며 또한 예방할 수 있는 숙주의 인자로 사용될 수 있는 중요성을 가진다.[29-33]

본 연구는 총 411명의 정상 대조군, 자궁경부상피내종양 그리고 침윤성암 환자를 대상으로 p53 유전자형의 분포를 조사하였지만, 병변의 진행단계와 관련된 p53 유전자형의 분포에는 유의한 연관성을 찾을 수 없었다. HPV 유전자 혹은 HPV 16/18형의 유전자가 검출된 대조군, 상피내종양 그리고 침윤성암에 있어서도 p53 유전자형의 분포 역시 유의한 상관관계를 찾을 수 없었다. 한국여성에 있어 p53Arg 유전자형이 대조군과 비교하여 상피내종양 혹은 침윤성암을 발생시키는 위험인자로써의 가치는 본 연구에서 찾을 수 없었다. p53 유전자형이 갖는 의의는 연구자마다 서로 상반된 결과를 보고하고 있으며 현재까지도 많은 논란이 제기되고 있다.[29-36]

이러한 상반된 연구 결과는 첫째, 유전적 소인의 다양성에 의한 인종적 차이로 인하여 발생할 수 있다. 노르웨이, 스웨덴, 코스타리카, 미국, 일본 그리고 한국 등 여러 나라의 여러 민족을 대상으로 연구한 결과[29-35]에서 정상인 혹은 대조군에 있어 p53Arg 유전자형의 빈도는 39.8~62.6%로 조사되어 p53 유전자형이 인종적 차이가 미미하지만 존재하고 있으며, 본 연구에서도 p53Arg 유전자형의 분포는 전체 대조군에서 41.8% (47/112), HPV 감염이 동반된 대조군에서 42.1% (22/53)로 조사되어 일본,[35] 코스타리카,[29] 아프리카[26]

및 한국인[36]을 대상으로 조사된 빈도와 유사하였다.

둘째, p53 유전자형에 대한 상반된 결과는 유전자형의 분석방법의 차이에 의해서 발생할 수 있다. 파라핀에 포매된 조직에서부터 추출한 DNA는 DNA 손상 정도가 심하여 큰 크기로 증폭하는 PCR 또는 DNA 검사에는 적합하지 않다고 알려져 있다.[39] 특히 Storey 등[28]의 연구에서는 파라핀 블록에서 추출한 DNA를 allele-특이 PCR 방법을 이용하여 증폭되는 크기의 차이에 따라 p53Arg, p53Pro 그리고 p53Het 유전자형으로 분류하였다. Allele-특이 PCR 방법은 DNA의 손상정도에 따라 많은 영향을 받기 때문에 p53 유전자형을 조사하는 방법으로는 적절하지 않고, 이런 방법을 이용하여 분석된 경우는 p53Arg 유전자형이 보다 높게 검출될 수 있는 오차를 제공할 수 있다고 생각된다.[34] 본 연구에 사용한 검체는 대부분 신선한 자궁경부 탈락세포에서 양질의 DNA를 추출할 수 있었으며, 일부 경우에서는 DNA를 파라핀 블록에서 추출하였지만 p53 유전자 내 codon 72 영역의 유전자를 용이하게 증폭할 수 있었고, 증폭된 유전자를 정제한 후 다형성을 보이는 염기에 특이한 제한효소로 절단하여 p53 유전자형을 조사하였기 때문에 검사 과정에서 발생할 수 있는 오차는 미미하리라 생각된다. 특히 대조군의 검체는 모두 신선한 조직에서 추출한 DNA를 사용하였기 때문에 검출 방법에 따른 오차는 극히 적을 것으로 사료된다.

셋째, 연구자마다의 다양한 결과는 연구 대상의 선택과 분류의 차이에 기인될 수 있을 것으로 생각된다. Storey 등[28]의 연구에서는 30명의 침윤성암 환자 중 p53Arg 유전자형은 23명(76.7%)으로 조사되어 다른 연구자들의 39.8~57.1% 보다 월등히 높은 빈도로 조사되었다. 이는 소수의 HPV 16/18형 감염이 동반된 침윤성암 환자와 제한된 대조군을 대상으로 연구되었기 때문에 통계적인 오차가 발생할 수 있는 가능성이 높다고 생각된다. 그러나 이후 실시된 연구에서 p53 유전자형과 HPV 감염 여부, 자궁경부암의 병기, 조직학적 유형 및 HPV 16/18형의 감염여부와는 유의한 연관성을 증명하지 못했다.[29] 본 연구에서도 대조군, 상피내종양 및 침윤성암 환자에서 HPV 감염과 HPV 16/18형의 동반 여부, 자궁경부암의 각 진행단계와 p53 유전자형 사이에는 유의한 연관성을 찾을 수 없었다.

넷째, 자궁경부암 환자에 동반된 HPV E6 종양단백질의 특성과 구조에 따라 p53 단백질과의 결합력과 분해도의 민감성에 차이를 보이는 것이 원인으로 생각된다. HPV의 E6, E7, 그리고 L1 유전자의 염기서열 차이가 2% 미만인 경우를 intratype 변형으로 정의하고,[8,9] 동일한 HPV 유전형일지라도 유전적 변형에 따라 생물학적 특성이 달라지는 것으로 보고되었다.[7,10,15] 특히 HPV 16형의 E6 유전자 내 350번째 염기가 T에서 G로 치환된 변형인 경우는 지속적인 감염을 유발하고 전암성 병변으로 진행되는 위험도가 증가된다고 보고되었다.[7,15] 그러나 스웨덴과 독일인에 있어서는 HPV 16형 변형이 자궁경부암으로 진행되는 바이러스의 위험인자로 작용하지만 이탈리아인에 있어서는 위험인자로서의 그 의미가 없었다는 결과가 보고되었다.[38] 이러한 결과는 HPV 변형이 가지는 발암인자로서 중요성은 바이러스 자체의 의미보다는 바이러스와 숙주간의 상호작용이 더욱 중요하다고 밝혀졌다.[15] Duin 등[31]은 HPV 16형 E6 변형이 p53Arg 유전자형의 p53 단백질의 분해정도가 증가된다고 실험적으로 증명하였고, HPV 16형 E6 변형이 p53Arg 유전자형을 가지는 자궁경부암 여성에서 보다 높은 빈도로 검출되어, p53Arg 유전자형이 HPV 16형 E6 변형에 감염된 경우는 숙주의 p53 유전자형이 자궁경부암의 발생을 증가시키는 위험인자로 작용한다고 보고하였다. 즉 p53Arg 유전자형이 자궁경부암의 위험인자로서 가지는 중요성은 HPV와의 상호작용에 의하여 좌우될 수 있는 것을 의미하며, p53 유전자형과 HPV E6 변형과의 연관성에 대하여 보다 세분화된 연구가 요구된다. 이상의 결과로 한국 여성에 있어 p53 유전자형은 자궁경부의 암성화 과정에 숙주의 위험 인자로 작용하지 않지만, 보다 객관적인 p53 유전자형의 의미를 규명하기 위하여는 광범위한 역학적 연구가 요구되어지며, HPV E6 유전자의 변화 혹은 아형과 자궁경부암 발생과의 관계를 연구하면 보다 정확한 p53 유전자형의 의의를 규명할 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 대한산부인과학회 부인종양위원회. 한국 부인암 등록사업 조사보고서 (1998.1-1998.12.31). 대한산부회지 2001; 44: 425-59.
2. IARC. IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans. Lyon France: IARC Scientific Publications; 1995.
3. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is

a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. J Pathol 1999; 189: 12-9.
4. Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greenberg MD, Lancaster W, Kurman RJ. Human papillomavirus infection of the cervix: relative risk associations of 15 common anogenital types. Obstet Gynecol 1992; 79: 328-37.
5. Hwang T. Detection and typing of human papillomavirus DNA by PCR using consensus primers in various cervical lesions of Korean women. J Korean Med Sci 1999; 14: 593-9.
6. Choi CS, Lee YT. Prevalence of human papillomavirus type 16 and 18 in the uterine cervix of Korean women. J Korean Soc Microbiol 1996; 31: 479-87.
7. Londesborough P, Ho L, Terry G, Cuzick J, Wheeler C, Singer A. Human papillomavirus genotype as a predictor of persistence and development of high-grade lesions in women with minor cervical abnormalities. Int J Cancer 1996; 69: 364-8.
8. Van Ranst MA, Tachezy R, Delius H, Burk RD. Taxonomy of the human papillomaviruses. Papillomavirus Reports 1993; 4: 61-5.
9. Myers G, Delius H, Icenogle JP, Bernard HU, Baker C, Halpern A, et al. HPV and animal PV nucleic acid sequences. In Human Papillomavirus Compendium. A Compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences, Los Alamos, NM: Los Alamos National Laboratory; 1995.
10. Xi LF, Koutsky LA, Galloway DA, Kuypers J, Hughes JP, Wheeler CM, et al. Genomic variation of human papillomavirus type 16 and risk for high grade cervical intraepithelial neoplasia. J Natl Cancer Inst 1997; 89: 796-802.
11. De Silva R, Whitaker NJ, Rogan EM, Reddel RR. HPV-16 E6 and E7 genes, like SV40 early region genes, are insufficient for immortalization of human mesothelial and bronchial epithelial cells. Exp Cell Res 1994; 213: 418-27.
12. Choo KB, Pan CC, Han SH. Integration of human papillomavirus type 16 into cellular DNA of cervical carcinoma: preferential deletion of the E2 gene and invariable retention of the long control region and the E6/E7 open reading frames. Virology 1987; 161: 259-61.
13. Disaia PJ, Creasman WT. Clinical gynecologic oncology. 6th ed. St. Louis: Mosby; 2002.
14. Werness BA, Levine AJ, Howley PM. Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. Science 1990; 248: 76-9.
15. Zehbe I, Voglino G, Delius H, Wilander E, Tommasino M. Risk of cervical cancer and geographical variations of human papillomavirus 16 E6 polymorphisms. Lancet 1998; 352: 1441-2.
16. Lechner MS, Mack DH, Finicle AB, Crook T, Vousden KH, Laimins LA. Human papillomavirus E6 proteins bind p53 in vivo and abrogate p53-mediated repression of transcription. EMBO J 1992; 11: 3045-52.
17. Li X, Coffino P. High-risk human papillomavirus E6 protein has two distinct binding sites within p53, of which only one determines degradation. J Virol 1996; 70: 4509-16.
18. el-Deiry WS, Tokino T, Velculescu VE, Levy DB, Parsons R, Trent JM, et al. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. Cell 1993; 75: 817-25.
19. Okamoto K, Beach D. Cyclin G is a transcriptional target of the p53 tumor suppressor protein. EMBO J 1994; 13: 4816-22.
20. Kastan MB, Zhan Q, el-Deiry WS, Carrier F, Jacks T, Walsh WV, et al. A mammalian cell cycle checkpoint pathway utilizing p53 and GADD45 is defective in ataxia-telangiectasia. Cell 1992; 71: 587-97.
21. Waga S, Hannon GJ, Beach D, Stillman B. The p21 inhibitor of cyclin-dependent kinases controls DNA replication by interaction with PCNA. Nature 1994; 369: 574-8.
22. Hollstein M, Rice K, Greenblatt MS, Soussi T, Fuchs R, Sorlie T, et al. Database of p53 gene somatic mutations in human tumors and cell lines. Nucleic Acids Res 1994; 22: 3551-5.
23. Hall PA, Lane DP. p53 in tumour pathology: can we trust immunohistochemistry? Revisited! J Pathol 1994; 172: 1-4.
24. Park DJ, Wilczynski SP, Paquette RL, Miller CW, Koeffler HP. p53 mutations in HPV-negative cervical carcinoma. Oncogene 1994; 9: 205-10.
25. Hunt CR, Hale RJ, Buckley CH, Hunt J. p53 expression in carcinoma of the cervix. J Clin Pathol 1996; 49: 971-4.
26. Beckman G, Birgander R, Sjalander A, Saha N, Holmberg PA, Kivela A, et al. Is p53 polymorphism maintained by natural selection? Hum Hered 1994; 44: 266-70.
27. Weston A, Perrin LS, Forrester K, Hoover RN, Trump BF, Harris CC, et al. Allelic frequency of a p53 polymorphism in human lung cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1992; 1: 481-3.
28. Storey A, Thomas M, Kalita A, Harwood C, Gardiol D, Mantovani F, et al. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. Nature 1998; 393: 229-34.
29. Hildesheim A, Schiffman M, Brinton LA, Fraumeni JF Jr, Herrero R, Bratti MC, et al. p53 polymorphism and risk of cervical cancer. Nature 1998; 396: 531-2.
30. Zehbe I, Voglino G, Wilander E, Genta F, Tommasino M. Codon 72 polymorphism of p53 and its association with cervical cancer. Lancet 1999; 354: 218-9.

31. van Duin M, Snijders PJ, Vossen MT, Klaassen E, Voorhorst F, Verheijen RH, et al. Analysis of human papillomavirus type 16 E6 variants in relation to p53 codon 72 polymorphism genotypes in cervical carcinogenesis. J Gen Virol 2000; 81: 317-25.
32. Rosenthal AN, Ryan A, Al-Jehani RM, Storey A, Harwood CA, Jacobs IJ. p53 codon 72 polymorphism and risk of cervical cancer in UK. Lancet 1998; 352: 871-2.
33. Helland A, Langerod A, Johnsen H, Olsen AO, Skovlund E, Borresen-Dale AL. p53 polymorphism and risk of cervical cancer. Nature 1998; 396: 530-1.
34. Josefsson AM, Magnusson PK, Ylitalo N, Quarforth-Tubbin P, Ponten J, Adami HO, et al. p53 polymorphism and risk of cervical cancer. Nature 1998; 396: 531.
35. Minaguchi T, Kanamori Y, Matsushima M, Yoshikawa H, Taketani Y, Nakamura Y. No evidence of correlation between polymorphism at codon 72 of p53 and risk of cervical cancer in Japanese patients with human papillomavirus 16/18 infection. Cancer Res 1998; 58: 4585-6.
36. Baek WK, Cho JW, Suh SI, Suh MH, Shin DH, Cho CH, et al. p53 codon 72 polymorphism and risk of cervical carcinoma in Korean women. J Korean Med Sci 2000; 15: 65-7.
37. Nindl I, Rindfleisch K, Lotz B, Schneider A, Durst M. Uniform distribution of HPV 16 E6 and E7 variants in patients with normal histology, cervical intra-epithelial neoplasia and cervical cancer. Int J Cancer 1999; 82: 203-7.
38. Crook T, Tidy JA, Vousden KH. Degradation of p53 can be targeted by HPV E6 sequences distinct from those required for p53 binding and trans-activation. Cell 1991; 67: 547-56.
39. Lindqvist AK, Magnusson PK, Balciuniene J, Wadelius C, Lindholm E, Alarcon-Riquelme ME, et al. Chromosome-specific panels of tri- and tetranucleotide microsatellite markers for multiplex fluorescent detection and automated genotyping: evaluation of their utility in pathology and forensics. Genome Res 1996; 6: 1170-6.

국문초록

목적 : 한국 여성에서 p53 유전자형이 인유두종 바이러스(Human Papillomavirus, HPV) 감염이 동반된 자궁경부암의 발생과 진행에 미치는 연관성을 조사하여, 자궁경부의 암성화 과정에서 숙주의 위험인자로서 p53 유전자 다형성의 역할을 연구하고자 하였다.

연구 방법 : 정상 대조군 112명 및 자궁경부의 상피내종양과 침윤성암 환자 299명을 대상으로 DNA를 추출하여, HPV L1 유전자 영역을 표적으로 하는 연쇄중합효소반응(Polymerase Chain Reaction, PCR)을 시행하여 HPV 감염 여부를 조사한 후, L1 유전자 영역에서 양성으로 조사된 검체는 HPV 16형과 18형의 유전자를 표적으로 하는 PCR을 시행하여 HPV 16형과 18형의 감염 여부를 조사하였다. p53 유전자내 codon 72 다형성(p53 유전자형)은 p53 유전자 exon 4 영역을 PCR로 증폭한 후 *Acc* Ⅱ 제한효소로 절단하여 절단된 절편의 양상을 비교하여 분석하였으며, 동형접합성 p53 arginine (p53Arg), 동형접합성 p53 proline (p53Pro) 그리고 이형접합성 p53 arginine/proline (p53Het) 유전자형의 빈도 및 분포를 조사하였다.

결과 : 1. HPV 감염의 빈도는 자궁경부의 병변이 정상에서 악성으로 진행될수록 증가하는 경향을 보였지만 유의성은 없었다($p>0.05$).

2. HPV 16형과 18형의 감염 빈도는 저등급 상피내병변 보다 고등급 상피내종양, 침윤성암으로 진행될수록 유의성 있게 높은 빈도로 검출되었다($p<0.05$).

3. p53Arg 유전자형 분포는 정상 대조군, 상피내종양 그리고 침윤성암 환자에서 유의한 차이를 찾을 수 없었다($p>0.05$).

4. HPV 감염 및 HPV 16형과 18형 감염이 동반된 대조군, 상피내종양, 침윤성암 환자에서도 p53Arg 유전자형의 분포의 차이는 찾을 수 없었다($p>0.05$).

결론 : 한국 여성에 있어 p53 유전자형은 자궁경부의 암성화 과정에 숙주의 위험 인자로 작용하지 않지만 HPV E6 유전자의 변화 혹은 아형과 자궁경부암 발생과의 관계를 연구하면 보다 정확한 p53 유전자형의 의의를 규명할 수 있을 것으로 생각된다.

중심단어 : p53 유전자 다형성, 인유두종 바이러스, 자궁경부암