

대장암에서 유전자 불안정성의 임상적 의의

이강영

연세대학교 의과대학 외과학교실

Genomic Instability in Colorectal Cancer; from Bench to Bed

Kang Young Lee, M.D.

Departments of Surgery, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Colorectal cancer is a disease developed by the accumulation of genomic alteration. Two genomic instability pathways, chromosomal instability pathway and microsatellite instability pathway, are known as the main pathways of the development of colorectal cancer. These are almost always mutually exclusive and tumors developed through each pathways show distinct clinicopathologic features. For the reason, molecular markers which represent each genomic instability pathways have been a candidate for translational research to find out prognostic or predictive factors. Loss of heterozygosity and aneuploidy are the hallmark of chromosomal instability and regarded as poor prognostic markers, whereas tumors with high frequency of microsatellite instability show better prognosis than microsatellite stable tumor. As a predictive factor of response from chemotherapy, loss of heterozygosity seems to be associated with a survival benefit from 5-FU adjuvant therapy. MSI-H has been reported as a predictive factor for poor response to 5-FU adjuvant chemotherapy. However, these molecular markers are not accepted to use in the clinic yet, since some of this kind of studies reported contradictory results. Further study will be needed to make more concrete evidences for these markers and to identify new molecular markers for routine use in the clinic.

Keywords: Colorectal cancer; Microsatellite instability; Chromosomal instability; Molecular marker

중심단어: 대장암, 미소위성체불안정성, 염색체불안정성, 분자생물학적표지자

서론

대장암은 우리나라에서 2005년 기준으로 인구 10만 명당 36.2명의 새로운 환자가 발생하여 발생 빈도가 가장 빠르게 증가하고 있는 암 가운데 하나이며 발생 빈도와 암사망을 모두 4번째로 높은 암이다.¹ 대장암은 대장의 정상 점막에서 선종(early adenoma)이 발생하고 이형성증이 동반된 선종(late adenoma)에서 선암(adenocarcinoma)으로 진행되는 단계적인 형태학적 변화의 과정을 거치며 발생하는 것으로 알려져 있다. 대장암의 발생 및 진행 과정에 대한 연구는 단지 대

장암의 발생 과정의 이해뿐 아니라 대장암의 예방, 치료 표적 및 예후 인자의 발굴 등 대장암 치료를 위해서도 중요하다. 지난 수십년간의 분자생물학 연구 결과의 축적으로 이와 같은 대장암의 발생, 성장 및 전이의 과정은 다양한 유전자 변이의 축적에 의한 것임이 잘 알려져 있다.² 지금까지 알려진 대표적인 대장암 발생 기전은 염색체 불안정성(chromosomal instability), 미소위성체불안정성(microsatellite instability), CpG island 메틸화 표현형(CpG island methylator phenotype; CIMP) 등이 알려져 있다. 이처럼 분자생물학적 발암 과정이 서로 다른 암들은 유전자 변이의 형태 및 임상병리학적 특성에도 서로 차이를 보인다. 이러한 이유로 발암 과정이 서로 다른 암에서 보이는 분자생물학적인 특성을 기초로 이를 대장암의 예방, 치료 반응의 예측 등 여러 분야에서 임상 적용하고자 하는 연구가 계속되고 있다. 이에 본 고찰에서는 대장암의 발암 과정을 살펴보고 이의 임상적 적용을 위한

Received : January 20, 2009 Accepted : April 10, 2009

Correspondence to : Kang Young Lee, M.D.

Department of Surgery, Yonsei University College of Medicine,
134 Sinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea
Tel : +82.2-2228-2123, Fax : +82.2-313-8289
E-mail : kylee117@yuhs.ac

©2009 The Korean Society of Coloproctology

연구 결과들을 고찰해 보고자 한다.

본 론

대장암의 형성과정(Colorectal tumorigenesis)

사람의 정상 체세포 분열 과정에서 돌연변이의 발생 가능성은 매우 낮지만 암세포에서는 수천의 유전자 변이가 발견되며 이와 같은 유전자 변이의 축적에 의하여 암이 발생하는 것으로 알려져 있다. 암세포에서 체세포 돌연변이의 빈도는 암종에 따라 차이가 있고 대장암의 경우 1.21/Mb의 빈도로 체세포 돌연변이가 관찰된다고 한다.^{3,4} 대장암의 발생은 대장 점막에서 선종이 발생하고 이후 선암이 발생하는 형태학적 변화를 거치며 이는 이와 같은 유전자 변이의 축적에 의한 것이다.² 대장암의 발생은 염색체 불안정성(chromosomal instability), 미소위성체불안정성(microsatellite instability)에 의한 것으로 알려져 있고 최근 촉진유전자의 과메틸화(promoter hypermethylation)를 특징으로 하는 CIMP도 중요한 부분으로 알려져 있다.⁵

염색체불안정성(chromosomal instability pathway)

산발성 대장암의 약 85%는 염색체불안정(chromosomal instability)으로 인하여 발생하는 것으로 알려져 있다.⁴ 염색체불안정성에 의한 발암 과정은 유전자 변이의 축적으로 K-ras와 같은 종양유전자(proto-oncogene)의 활성화와 APC (chromosome 5q), p53 (chromosome 17p), DCC, SMAD2, SMAD 4 (chromosome 18q) 등 종양억제유전자(tumor suppressor gene)의 불활성화에 의하여 정상 점막에서 선암으로 진행되는 과정이다.^{2,6,7} 이 과정에 의해 발생한 암은 염색체의 부분 결실이나 증폭으로 홀배수체(aneuploidy)를 보이며, 이형접합성소실(loss of heterozygosity)이 흔히 발견되고 결과적으로 유전자 변이를 유발한다.⁸ 이러한 염색체 이상은 정상 대장점막에서는 발견되지 않지만 선종, 선암으로 진행하며 빈도가 증가하고 암의 진행에 따라 더욱 증가된다.⁹

염색체불안정성이 발생하는 기전은 아직 명확히 밝혀져 있지 않지만 다양한 연구가 진행되고 있다. mitotic checkpoint protein (BUB1, BUB1b)을 encoding하는 유전자의 변이와 centrosome-associated serine threonine kinase (Aurora kinase A)의 과발현이 염색체불안정성의 기전이 될 수 있다고 보고된다.^{7,10,11} 또한 telomere dysfunctions, microtubule dynamic instability, kinetochore structure and function, chromosome condensation and sister chro-

matid cohesion 등이 염색체불안정성의 원인을 설명하는 기전으로 제시되고 있다.¹²⁻¹⁴ 이 외에도 APC, TP53, FBXW7, CHFR 등이 이 과정에 관여할 가능성이 제시되는 등 많은 연구가 진행되고 있는 분야이다.¹⁵⁻¹⁸

염색체불안정성을 확인하기 위하여는 미소위성체(microsatellite)를 이용한 LOH검사(Fig. 1), array based comparative genomic hybridization 등¹⁹ 다양한 실험 방법을 쓸 수 있다. 연구 방법의 많은 발전으로 동시에 많은 검체의 결과를 얻을 수 있고 정확도도 증가되었지만 아직 검사 방법의 한계, 비용 문제 등의 제한이 있다. 예를 들면 array CGH 방법은 복제 수의 변화(copy number variation)를 확인하는데 매우 예민한 검사이지만 다수의 상호 전좌(reciprocal translocation)가 있는 경우에는 allele copy number 또는 DNA 양에 거의 변화가 없어서 염색체 불안정성이 없는 것으로 보일 수 있다.²⁰ 또한 미소위성체(microsatellite)를 이용한 LOH 진단의 경우에도 위음성, 또는 non-informative의 경우에도 검사 결과에 오류를 가져올 수 있다. 종양의 이질성과 함께 이러한 연구 방법의 제한은 연구 결과를 얻는데 제한이 되고 있으나 연구 방법의 발전과 함께 극복될 수 있으리라 기대한다.

미소위성체불안정성(microsatellite instability pathway)

미소위성체(microsatellite)는 1-6개 정도의 짧은 염기 서열이 반복되는 DNA의 일부를 지칭하는 말이다. 미소위성체 불안정성(microsatellite instability)은 이러한 반복되는 염기의 삽입 또는 상실로 인하여 정상세포와 비교하여 암세포에서 반복되는 염기의 길이 변화가 초래된 상태를 말한다.²¹ DNA 복제 과정에서 미소위성체에서 돌연변이의 발생은 여러 가지 요인에 의하여 결정되지만 가장 중요한 것은 DNA 복제 과정의 이상을 교정하는 시스템의 효율성에 있으며 염색체 불일치 복구 유전자(mismatch repair gene)가 정상적으로 기능을 하는 경우 미소위성체에서의 돌연변이를 100-1,000배 감소시킬 수 있다.²²

미소위성체불안정성은 유전성 비용종성 대장암(hereditary non-polyposis colorectal cancer)의 표지자로서 발견되었으며 이는 특정 유전자에만 국한된 현상이 아니라 종양세포의 유전자에 전체적으로 발견되는 이상이다.^{23,24} 유전성 비용종성 대장암은 전체 대장암 가운데 약 2-3%의 빈도로 보고되며 hMLH1, hMSH2, hMSH6, hPMS2, hPMS1 등 염색체 불일치 복구 유전자의 배선돌연변이(germline mutation)에 의한 염색체 불일치 복구 유전자의 기능 상실로 인하여 미

소위성체불안정성이 발생하고 이는 상염색체 우성(autosomal dominant)으로 유전된다.^{25,26} 미소위성체불안정성은 산발성 대장암에서는 약 10-15% 빈도로 보고되며 이는 주로 hMLH1 유전자의 후천적인 촉진유전자의 과메틸화(acquired promoter hypermethylation)에 의한 전사억제(transcriptional silencing)에 의한 것으로 알려져 있다.²⁷⁻²⁹ MSI는 전 유전자에 걸쳐 여러 부분에서 동시에 발생하지만 특정 유전자(TGF- β RII, Bax, IGF II receptor, PTEN)를 암호화하는 영역(coding sequences)에서 발생하여 이 유전자의 기능 발현을 억제하여 암의 진행에 관여하기도 한다.³⁰

미소위성체불안정성 검사는 암과 정상 조직에서 얻어진 genomic DNA를 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction)으로 증폭한 후 전기영동(electrophoresis)을 하여 정상 조직과 암 조직의 미소위성체(microsatellite)길이를 비교하여 차이가 있으면 미소위성체불안정성으로 판정한다(Fig. 1). 검사를 하는 표지자의 종류, 수는 연구자에 따라 차이가 있으나 Bethesda guideline에 따르면 2개의 mononucleotide marker (BAT25, BAT26)와 3개의 dinucleotide marker (D5S346, D2S123, D17S250)을 기준이 되는 표지자로 제시하였고 검사를 시행한 표지자 가운데 40% 이상에서 불안정성(instability)이 있으면 MSI-H, 40% 미만인 경우 MSI-L, 불안정성이 없는 경우 MSS로 분류한다고 하였다.³¹

CIMP (CpG island methylator phenotype)

염색체 불안정성, 미소위성체 불안정성과 함께 DNA 메틸화, 히스톤 변형 등 유전자의 후생학적 변화(epigenetic change)가 대장암의 발암기전의 하나로 알려져 있다.⁵ 정상 조직과 비교하여 암조직에서는 DNA에 전반적인 저메틸화(global hypomethylation)와 특정 유전자와 관련된 부분에서 과메틸화(regional hypermethylation)를 보인다.³² 이 가운데 DNA 과메틸화(hypermethylation)는 retinoblastoma 유전자 촉진자(promoter)의 과메틸화가 보고된 이래 암 생성과 관련된 많은 유전자가 과메틸화로 인하여 비활성화 되어 있음이 증명되었다.³³

“CpG island”는 DNA의 5' 촉진자 영역에 존재하는 CpG 염기 서열을 다수 포함하는 0.3-4 kb 길이의 유전자를 지칭하며 약 50%의 유전자에서 발견된다.³⁴ CpG islands는 정상적으로 메틸화가 안된 상태로 존재하며 메틸화가 안된 상태를 유지하는 기전은 아직 확실히 알려져 있지는 않다. CpG islands의 과메틸화는 유전자의 기능 억제를 유발하며⁵ 대장암에서 p16 (CDKN2A), p14/ARF, hMLH1, MGMT 등 많은 유전자에서 과메틸화와 이로 인한 유전자의 기능 억제가 확인되어 있다.³⁵ 이와 같은 CpG islands의 과메틸화의 많은 부분은 노화 과정에서 나타나는 현상으로 정상 대장 조직에서도 관찰되지만 노화와 관련된 부분을 제외하고나면 대장암 조직

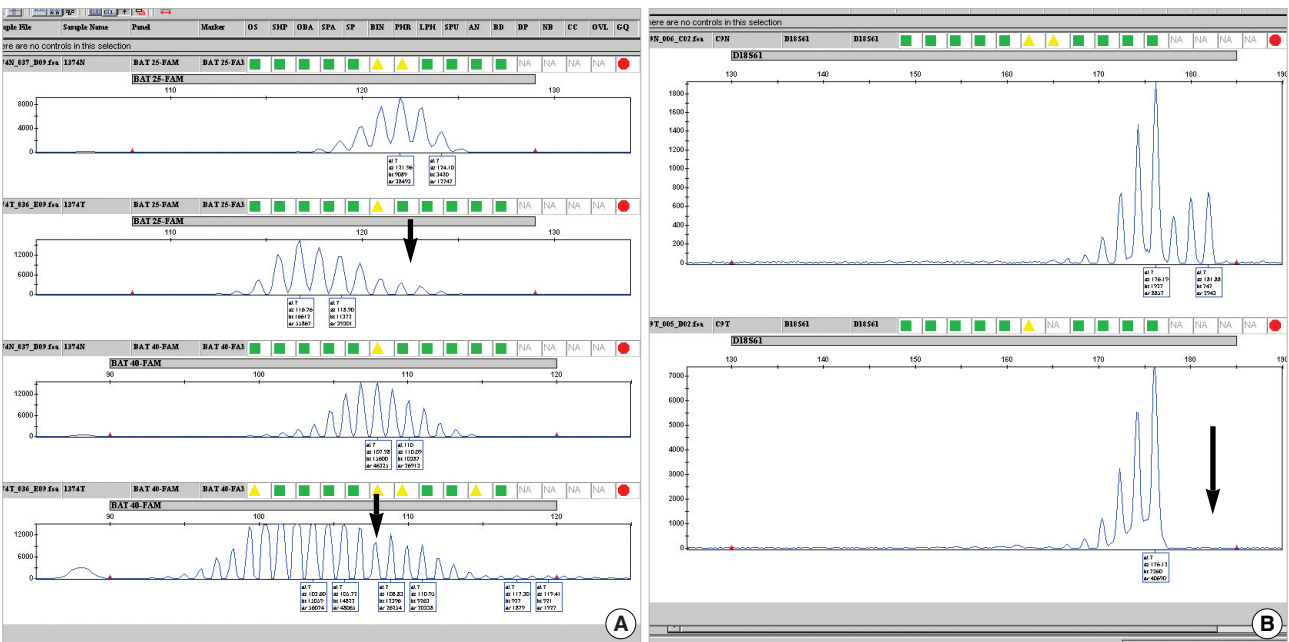


Fig. 1. Microsatellite instability and loss of heterozygosity analysis with capillary electrophoresis. (A) microsatellite instability; change of allele length or aberrant peak compared to corresponding normal (B) loss of heterozygosity; complete loss of one allele or more than 50% loss of one allele compared to corresponding normal.

에서만 과메틸화가 관찰되는 유전자군이 있고³⁶ 이들은 임상 병리학적으로 뿐만 아니라 분자생물학적으로도 독특한 특성을 대장암 환자군을 대표하게 되며 이를 CpG island methylator phenotype (CIMP) 양성으로 분류한다.^{37,38}

유전자 변이의 임상적 응용

현재까지 대장암의 근치적 수술 후 예후 예측 및 치료 방침의 결정에 가장 널리 쓰이고 있는 방법은 TNM 병기 분류 방법이다. 이는 절제된 암조직의 조직 병리 검사에 의하여 암침윤 깊이, 영역 림프절 전이, 원격전이 여부 등을 종합하여 병기를 구분하는 방법으로 지금까지 예후를 비교할 수 있는 가장 좋은 방법으로 알려져 있다. 하지만 이 방법에 의해서도 같은 병기를 가진 환자에서 서로 상이한 예후를 보이는 경우가 있고 치료 반응은 특히 예측하기가 어렵다.

위에서 언급된 두 유전자 불안정성(genomic instability)에 의한 대장암은 한 암종에서 동시에 두 가지 기전의 특성을 보이는 경우는 거의 없으며 서로 다른 임상병리학적 특징을 갖는다(Table 1).³⁹⁻⁴² 이처럼 중앙 발생 기전이 다른 암종은 생물학적인 특성이 달라서 각각의 과정에 관여하는 유전자들이나 특징적인 유전자 변화를 이용하여 예후 또는 치료 반응의 예측을 위한 표지자로서 사용하기 위한 연구들이 진행되어 왔다.

염색체 불안정성(chromosomal instability)의 임상 적용

염색체 불안정성(Chromosomal instability)에 의한 대장암은 염색체의 결실(deletion), 삽입(insertion), 또는 재배열(rearrangement) 등을 특징으로 하며 이 과정에서 암억제유전자(tumor suppressor gene)의 기능 소실 또는 약화, 혹은 암유전자(oncogene)의 활성화(amplification)에 의하여 암

Table 1. Characteristics of CIN and MSI

	MSI-H	MSS	P value	References
Gender (M:F)	1:2.1	1:0.66	0.004	30
Proximal location	70-89%	18-37%	<0.001	30, 31, 32
Lymph nodes metastasis	35.3%	57.5%	<0.001	31
Poorly differentiated	26-43.8%	8-18%	<0.001	30, 31, 32
Mucinous histology	31-67%	15-18%	<0.05	30, 32
Crohn's like lymphoid reaction	69.2%	44.4%	<0.0007	32
Absence of dirty necrosis	82.7%	23.4%	<0.001	32
B-raf mutation	43.5%	5%		33
K-ras mutation	11.4%	34.7%		33
P53 mutation	12.3%	48.9%		33

발생에 관여한다.¹³ 홀배수체(anuploidy)는 염색체 불안정성에 의한 대장암의 특징 중 하나이며 홀배수체(anuploidy), 이형접합성소실(loss of heterozygosity)을 동반한 암은 예후가 불량하다.⁴³

대장암에서 18q 염색체의 이형접합성소실(loss of heterozygosity)의 빈도는 70%까지 보고되며 이는 대장암의 발암 과정에서뿐 아니라 예후 인자로서도 중요하다.⁴⁴ 18q chromosome에는 DCC (18q21.3), SMAD2 (18q21.1), SMAD4 (18q21.1), Cables (18q11-12) 등의 유전자가 존재하며^{45,46} 이 유전자들의 발현 결핍이 있거나 18q LOH가 있는 대장암은 예후가 불량하다고 보고된다(Table 2).⁴⁷⁻⁵² 또한 II기 대장암 환자에서 18q LOH가 있는 환자의 예후가 유의하게 나쁨을 보고하여 18q LOH가 II기 대장암 환자에서 수술 후 항암보조요법의 적용이 되는 고위험 환자를 찾는 지표가 될 수 있다고 하였다.⁵³

17p 염색체의 이형접합성소실은 대장암에서 빈번히 관찰되며 TP53 유전자 변이는 약 50%의 빈도로 보고된다.⁵⁴ TP53 유전자는 17p13에 위치하며 세포주기(cell cycle)의 조절, 세포자멸사(apoptosis), 발암과정(carcinogenesis) 등에 관여한다.^{55,56} 예후인자로서 TP53 유전자 변이는 불량한 예후를 시사하며^{52,57-59} 이는 다른 예후인자들에 독립적인 예후 인자로 보고된다(Table 3).⁶⁰

대장암에서 이형접합성 소실(loss of heterozygosity)은 5-FU 항암제에 대한 치료 반응의 예측 인자로서 가능성도 제

Table 2. 18q LOH (DCC) as a prognostic factor in colorectal cancer

Number of patients	TNM stage	Impact on prognosis	Reference
42	IV (palliative)	Poor prognosis	Aschele et al. ³⁸
170	II	Poor prognosis	Reymond et al. ³⁹
132	II/III	Poor prognosis	Shibata et al. ⁴⁰
460	II/III	Poor prognosis	Watanabe et al. ⁴¹
151	I-IV	Shorter survival	Ogunbiyi et al. ⁴²
220	I-IV	Shorter survival	Diep et al. ⁴³
145	II/III	Shorter survival	Jen et al. ⁴⁴

Table 3. LOH of 17p (TP53) as a prognostic factor in colorectal cancer

Number of patients	TNM stage	Impact on prognosis	Reference
91	IV	Poor prognosis	Mollevi et al. ⁴⁸
213	I-IV	Poor prognosis	Chang et al. ⁴⁹
220	I-IV	Shorter survival	Diep et al. ⁴³
73	II	Shorter survival	Choi et al. ⁵⁰

시되었다. UK AXIS trial에 포함되었던 393명의 stage II, III 환자를 대상으로 한 연구 결과에서는 17p 또는 18q LOH가 5-FU 치료에 대하여 좋은 치료 효과를 예측할 수 있는 예측 인자로 보고 하였다.⁶¹

미소위성체불안정성(microsatellite instability)의 임상 적용

미소위성체불안정성(MSI-H)을 보이는 종양은 MSI-L/MSS 종양과 비교하여 독특한 임상병리학적인 특성을 보이며⁶² 환자의 예후도 좋은 것으로 보고된다(Table 4).^{40,63-65} 진단 당시의 병기 분포, 국소 림프절 전이의 빈도 등 대장암의 진행 정도를 시사하는 지표들을 비교해 보면 MSI-H 종양이 MSS 종양보다 진행된 암의 빈도가 낮으며, 예후 인자로서 MSI-H는 다른 임상적인 지표들에 독립적인 예후 인자임을 보인다.⁴⁰

MSI-H 종양의 예후가 좋은 이유는 아직 확실하지는 않지만 면역학적인 특성이 이를 설명하는 기전이 될 수 있다. MSI-H 종양을 H&E 염색을 하여 관찰할 때 특징 중 하나는 peritumoral lymphocyte infiltration (Crohn's like inflammation) 소견이다.⁶⁶⁻⁶⁸ 이러한 염증 반응이 MSI-H 종양의 예후가 좋은 이유의 하나로 설명되며 특히 granzyme B, perforin 등을 발현하는 CD8-positive lymphocytes의 세포 독성이 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.⁶⁷⁻⁶⁹

염색체불일치 복구유전자(MMR)는 항암제의 세포 내 작용에 대하여도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. Base analogue (6-TG), alkylating agent (MNNG), adduct-forming drug (cisplatin) 등과 같은 DNA-damaging agent는 염색체불일치 복구유전자에 결손이 있는 세포에서 약물 반응이 저하되는 것으로 보고된다.⁷⁰⁻⁷² 이러한 항암제에 의하여 유발된 DNA의 변화(adduct formation, incorporation)는 그 자체로 세포 사멸을 유도하지는 못하지만 염색체 불일치 복구 체계가 이러한 DNA의 변화를 인식하여 이를 교정하고자 한다. 하지만 항암제에 의한 DNA의 변화는 염색체 불일치 복구 체계에 의하여 교정되어지지 않기 때문에 결국 세포에서는 cell cycle arrest가 일어나고 세포사멸사(apoptosis)가

Table 4. Microsatellite instability as a prognostic factor in colorectal cancer

Number of patients	TNM stage	Impact on prognosis	Reference
607	I-IV	Favorable	Gryfe et al. ³¹
154	I-IV	Favorable	Samowitz et al. ⁵⁴
255	III	Favorable	Wright et al. ⁵⁵
216	I-IV	Favorable	Gafa et al. ⁵⁶

유도되는 것으로 설명된다.⁷³ 하지만 염색체 불일치 복구 유전자에 변이가 일어난 세포에서는 이러한 과정이 일어나지 않기 때문에 항암제에 저항성을 가지는 것으로 이해된다. 대장암에서 가장 많이 쓰여지는 항암제인 5-FU의 경우 5-FU 대사물이 바로 DNA에 결합하거나 또는 dTTP 생성 억제에 의한 dNTP의 불균형을 초래하고 이러한 DNA의 이상이 염색체 불일치 복구 유전자에 의하여 확인되면 DNA 나선구조의 손상, G2 arrest 등을 유발하고 궁극적으로 세포사멸(cell death)을 유발하는 것으로 생각된다(Fig. 2). 염색체 불일치 복구 기전에 문제가 있는 경우 이러한 세포 사멸로 유도하는 과정에 장애가 생겨 5-FU 항암제에 저항성을 갖게 된다.⁷⁴ 염색체 불일치 복구 유전자와 항암제 내성과의 연관성은 hMLH1 유전자가 포함된 정상 chromosome 3를 삽입하거나, 5-Aza-2'-deoxycytidine으로 탈메틸화(demethylation) 시켜서 염색체 불일치 복구 유전자의 기능을 복원함으로써 항암제 내성이 없어지고 효과를 회복하는 것으로도 증명되어 있다.^{70,75}

염색체 복제 유전자 변이에 의한 항암제에 대한 내성은 세포주 실험에서 뿐 아니라 대장암 환자의 검체를 이용한 실험에서도 확인되고 있다. Ribic 등은 5개의 randomized study에서 얻어진 570명의 stage II, III 환자를 대상으로 MSI 상태가 5-FU 치료 반응을 예측할 수 있는지 확인하였다.⁷⁶ 이들의 결과를 보면 MSS/MSI-L 종양에서는 5-FU adjuvant therapy를 한 경우 유의한 생존율의 증가를 확인할 수 있었으나 MSI-H 종양에서는 생존율의 증가가 없었고 오히려 5-FU 치료를 하지 않은 환자군의 생존율이 더 좋았다. 이는 MSI-H 종양을 가진 환자의 경우 항암제 치료에 의한 효과는 없고 항암제의 부작용으로 인하여 예후가 나쁠 수 있을 것으로 추정하였다. MSI-H 종양의 5-FU 치료에 대한 내성은 다른 연구들에 의하여도 세포주 실험에서와 같은 결과가 보고되었다.^{50,77,78} 하지만 5-FU 반응을 예측하는 인자로서 MSI-H에 대한 연구 결과는 보고에 따라 차이가 있어 Kim 등은 NSABP에서 진행되었던 4개의 randomized trial에서 추출

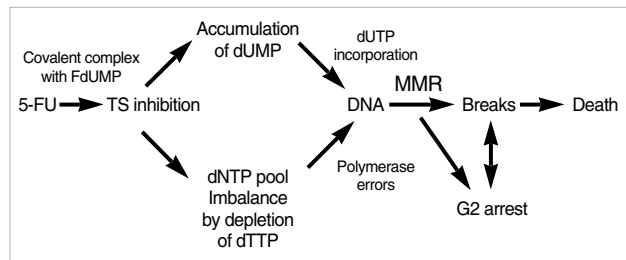


Fig. 2. A model of the proposed role of MMR in 5-FU mediated cell death and cell cycle responses.

된 542명 환자의 검체를 가지고 동일한 내용의 연구를 진행하였고 이들의 결과는 MSI 상태가 5-FU 반응을 예측하지 못한다고 보고하였다.⁷⁹

지금까지 미소위성체불안정성(microsatellite instability)에 대한 대부분의 연구는 MSS/MSI-L 종양에 대한 MSI-H 종양의 특성에 대한 것이다. MSI-L 종양은 MSS와 정의에서는 다르지만³⁸ 임상병리학적 특성에 거의 차이가 없어서 MSS 종양과 같은 범주로 여겨지는 경우가 많다. 하지만 MSI-L 종양에서 MSS에 비하여 K-ras 유전자 변이의 빈도가 높고^{80,81} 예후에서도 차이가 있다는 보고가 있다.^{82,83} 대장암에서 MSI-L의 임상적 의의에 대하여는 앞으로 연구가 필요한 부분이다.

CIMP (CpG island methylator phenotype)

CIMP는 Toyota 등에 의하여 대장암에서 기술된 이후 염색체불안정성, 미소위성체불안정성과 함께 대장암이 발생하는 한 기전으로 알려져 있다.³⁶ 또한 CIMP 기전에 의한 대장암은 단지 과메틸화(hypermethylation)의 특징 뿐 아니라 임상병리학적(고령, 여성, 우측 대장에 호발), 분자생물학적(MSI, K-ras, p53, B-raf 유전자 변이와 연관)으로 특징적인 모양을 보인다.^{35,84,85} 이와 같은 CIMP 대장암의 특성과 염색체불안정성, 미소위성체불안정성과의 관계 등에 기초하여 Jass는 대장암의 분자 생물학적 분류를 제안하기도 하였다.⁸⁶

분자 생물학적인 표지자로서 CIMP의 역할에 대한 연구는 최근에 많은 결과가 보고되고 있지만 문제는 CIMP를 진단하기 위한 표지자의 표준화가 안되어 있다는 것이다. CIMP는 MSI와 같이 유전자의 여러 부분을 검사하여 양성과 음성을 구분하기 때문에 사용된 표지자의 종류 및 수가 다르게 되면 결과의 차이를 보일 수 있고 결국 이러한 차이로 인하여 객관적인 결과의 해석이 어렵게 된다. 이와 같은 문제를 해결하기 위하여 CIMP 표지자의 표준화를 위한 연구가 계속되고 있고⁸⁷⁻⁸⁹ 조만간 표준화된 CIMP panel에 대한 동의가 이루어질 것으로 기대된다. 이를 바탕으로 CIMP에 대한 중재 연구 또한 더욱 활발해 질 것이다.

결 론

대장암에 대한 분자생물학적인 이해가 깊어지고 실험 기법이 발전하면서 대장암의 발생 및 진행 과정에 대한 분자생물학적 이해를 위한 연구에서 많은 환자의 검체들을 가지고 실제 임상에 적용하기 위한 표지자를 찾고자 하는 중재 연구가

활발히 진행되고 있다. 하지만 실험실에서의 세포주 실험과는 달리 고형암의 이질성, 많은 임상 변수 등으로 인하여 연구 결과들이 서로 상충되는 경우가 많다. 이러한 이유로 American Society of Clinical Oncology (ASCO), European Group on Tumour Markers (EGTM)에서 분자 생물학적 표지자의 임상 활용 가능성에 대하여 검토를 하였으나 아직 임상에서 사용을 권고하기에는 증거가 부족한 것으로 결론지어 졌다.^{90,91} 하지만 이와 같은 문제점들은 후속 연구들에 의하여 극복될 수 있을 것이며 표준화된 치료에 근거한 임상 자료들과 실험실 연구 성과의 유기적인 연결이 대장암 환자 각각에게 맞춤형 치료를 근간에 실현시킬 수 있을 것이다.

REFERENCES

1. Ministry for Health, Welfare and Family Affairs. Annual Report of cancer incidence (2005) and survival (1993-2005) in Korea. Seoul: Ministry for Health, Welfare and Family Affairs; 2008.
2. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61:759-67.
3. Greenman C, Stephens P, Smith R, Dalgliesh GL, Hunter C, Bignell G, et al. Patterns of somatic mutation in human cancer genomes. *Nature* 2007;446:153-8.
4. Wang TL, Rago C, Silliman N, Ptak J, Markowitz S, Willson JK, et al. Prevalence of somatic alterations in the colorectal cancer cell genome. *Proc Natl Acad Sci* 2002;99:3076-80.
5. Jones PA, Laird PW. Cancer epigenetics comes of age. *Nat Genet* 1999; 21:163-7.
6. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988;319:525-32.
7. Cahill DP, Lengauer C, Yu J, Riggins GJ, Willson JK, Markowitz SD, et al. Mutations of mitotic checkpoint genes in human cancers. *Nature* 1998;392:300-3.
8. Grady WM. Genomic instability and colon cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2004;23:11-27.
9. Tsafirir D, Bacolod M, Selvanayagam Z, Tsafirir I, Shia J, Zeng Z, et al. Relationship of gene expression and chromosomal abnormalities in colorectal cancer. *Cancer Res* 2006;66:2129-37.
10. Nishida N, Nagasaka T, Kashiwagi K, Boland CR, Goel A. High copy amplification of the Aurora-A gene is associated with chromosomal instability phenotype in human colorectal cancers. *Cancer Biol Ther*

- 2007;6:525-33.
11. Iacopetta BJ, Welch J, Soong R, House AK, Zhou XP, Hamelin R. Mutation of the transforming growth factor-beta type II receptor gene in right-sided colorectal cancer: relationship to clinicopathological features and genetic alterations. *J Pathol* 1998;184:390-5.
 12. Maser RS, DePinho RA. Connecting chromosomes, crisis, and cancer. *Science* 2002;297:565-9.
 13. Rajagopalan H, Nowak MA, Vogelstein B, Lengauer C. The significance of unstable chromosomes in colorectal cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3:695-701.
 14. Albertson DG, Collins C, McCormick F, Gray JW. Chromosome aberrations in solid tumors. *Nat Genet* 2003;34:369-76.
 15. Fodde R, Kuipers J, Rosenberg C, Smits R, Kielman M, Gaspar C, et al. Mutations in the APC tumour suppressor gene cause chromosomal instability. *Nat Cell Biol* 2001;3:433-8.
 16. Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997;88:323-31.
 17. Rajagopalan H, Bardelli A, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B, Velculescu VE. Tumorigenesis: RAF/RAS oncogenes and mismatch-repair status. *Nature* 2002;418:934.
 18. Scolnick DM, Halazonetis TD. Chfr defines a mitotic stress checkpoint that delays entry into metaphase. *Nature* 2000;406:430-5.
 19. Masramon L, Ribas M, Cifuentes P, Arribas R, García F, Egozcue J, et al. Cytogenetic characterization of two colon cell lines by using conventional G-banding, comparative genomic hybridization, and whole chromosome painting. *Cancer Genet Cytogenet* 2000;12:17-21.
 20. Abdel-Rahman WM, Katsura K, Rens W, Gorman PA, Sheer D, Bicknell D, et al. Spectral karyotyping suggests additional subsets of colorectal cancers characterized by pattern of chromosome rearrangement. *Proc Natl Acad Sci* 2001;98:2538-43.
 21. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nat Rev Genet* 2004;5:435-45.
 22. Kunkel TA, Erie DA. DNA mismatch repair. *Annu Rev Biochem* 2005;74:681-710.
 23. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science* 1993;260:816-9.
 24. Aaltonen LA, Peltomäki P, Mecklin JP, Järvinen H, Jass JR, Green JS, et al. Replication errors in benign and malignant tumors from hereditary nonpolyposis colorectal cancer patients. *Cancer Res* 1994;54:1645-8.
 25. Peltomäki P. DNA mismatch repair and cancer. *Mutat Res* 2001;488:77-85.
 26. Peltomäki P, Vasen HF. Mutations predisposing to hereditary nonpolyposis colorectal cancer: database and results of a collaborative study. The International Collaborative Group on Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer. *Gastroenterology* 1997;113:1146-58.
 27. Veigl ML, Kasturi L, Olechnowicz J, Ma AH, Lutterbaugh JD, Periyasamy S, et al. Biallelic inactivation of hMLH1 by epigenetic gene silencing, a novel mechanism causing human MSI cancers. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:8698-702.
 28. Herman JG, Umar A, Polyak K, Graff JR, Ahuja N, Issa JP, et al. Incidence and functional consequences of hMLH1 promoter hypermethylation in colorectal carcinoma. *Proc Natl Acad Sci* 1998;95:6870-5.
 29. Thibodeau SN, French AJ, Cunningham JM, Tester D, Burgart LJ, Roche PC, et al. Microsatellite instability in colorectal cancer: different mutator phenotypes and the principal involvement of hMLH1. *Cancer Res* 1998;58:1713-8.
 30. Chung DC, Rustgi AK. The hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: genetics and clinical implications. *Ann Intern Med* 2003;138:560-70.
 31. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:5248-57.
 32. Baylin SB, Herman JG, Graff JR, Vertino PM, Issa JP. Alterations in DNA methylation: a fundamental aspect of neoplasia. *Adv Cancer Res* 1998;72:141-96.
 33. Santini V, Kantarjian HM, Issa JP. Changes in DNA methylation in neoplasia: pathophysiology and therapeutic implications. *Ann Intern Med* 2001;134:573-86.
 34. Cross SH, Bird AP. CpG islands and genes. *Curr Opin Genet Dev* 1995;5:309-14.
 35. Issa JP. The epigenetics of colorectal cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2000;910:140-53.
 36. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci* 1999;96:8681-6.
 37. Whitehall VL, Wynter CV, Walsh MD, Simms LA, Purdie D, Pandeya N, et al. Morphological and molecular heterogeneity within nonmicrosatellite instability-high colorectal cancer. *Cancer Res* 2002;62:6011-4.
 38. van Rijnsoever M, Grieu F, Elsah H, Joseph D, Iacopetta B. Characterisation of colorectal cancers showing hypermethylation at multiple

- CpG islands. *Gut* 2002;51:797-802.
39. Ward R, Meagher A, Tomlinson I, O'Connor T, Norrie M, Wu R, et al. Microsatellite instability and the clinicopathological features of sporadic colorectal cancer. *Gut* 2001;48:821-9.
 40. Gryfe R, Kim H, Hsieh ET, Aronson MD, Holowaty EJ, Bull SB, et al. Tumor microsatellite instability and clinical outcome in young patients with colorectal cancer. *N Engl J Med* 2000;342:69-77.
 41. Greenson JK, Bonner JD, Ben-Yzhak O, Cohen HI, Miselevich I, Resnick MB, et al. Phenotype of microsatellite unstable colorectal carcinomas: Well-differentiated and focally mucinous tumors and the absence of dirty necrosis correlate with microsatellite instability. *Am J Surg Pathol* 2003;27:563-70.
 42. Samowitz WS, Sweeney C, Herrick J, Albertsen H, Levin TR, Murtaugh MA, et al. Poor survival associated with the BRAF V600E mutation in microsatellite-stable colon cancers. *Cancer Res* 2005;65:6063-9.
 43. Walther A, Houlston R, Tomlinson I. Association between chromosomal instability and prognosis in colorectal cancer: a meta-analysis. *Gut* 2008; 57:941-50.
 44. Popat S, Houlston RS. A systematic review and meta-analysis of the relationship between chromosome 18q genotype, DCC status and colorectal cancer prognosis. *Eur J Cancer* 2005;41:2060-70.
 45. Fearon ER, Cho KR, Nigro JM, Kern SE, Simons JW, Ruppert JM, et al. Identification of a chromosome 18q gene that is altered in colorectal cancers. *Science* 1990;247:49-56.
 46. Kirley SD, D'Apuzzo M, Lauwers GY, Graeme-Cook F, Chung DC, Zukerberg LR. The Cables gene on chromosome 18Q regulates colon cancer progression in vivo. *Cancer Biol Ther* 2005;4:861-3.
 47. Aschele C, Debernardis D, Lonardi S, Bandelloni R, Casazza S, Monfardini S, et al. Deleted in colon cancer protein expression in colorectal cancer metastases: a major predictor of survival in patients with unresectable metastatic disease receiving palliative fluorouracil-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 2004;22:3758-65.
 48. Reymond MA, Dworak O, Remke S, Hohenberger W, Kirchner T, Köckerling F. DCC protein as a predictor of distant metastases after curative surgery for rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1998;41:755-60.
 49. Shibata D, Reale MA, Lavin P, Silverman M, Fearon ER, Steele G Jr, et al. The DCC protein and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1996;335:1727-32.
 50. Watanabe T, Wu TT, Catalano PJ, Ueki T, Satriano R, Haller DG, et al. Molecular predictors of survival after adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2001;344:1196-206.
 51. Ogunbiyi OA, Goodfellow PJ, Herfarth K, Gagliardi G, Swanson PE, Birnbaum EH, et al. Confirmation that chromosome 18q allelic loss in colon cancer is a prognostic indicator. *J Clin Oncol* 1998;16:427-33.
 52. Diep CB, Thorstensen L, Meling GI, Skovlund E, Rognum TO, Lothe RA. Genetic tumor markers with prognostic impact in Dukes' stages B and C colorectal cancer patients. *J Clin Oncol* 2003;21:820-9.
 53. Jen J, Kim H, Piantadosi S, Liu ZF, Levitt RC, Sistonen P, et al. Allelic loss of chromosome 18q and prognosis in colorectal cancer. *N Engl J Med* 1994;331:213-21.
 54. Munro AJ, Lain S, Lane DP. P53 abnormalities and outcomes in colorectal cancer: a systematic review. *Br J Cancer* 2005;92:434-44.
 55. Rodrigues NR, Rowan A, Smith ME, Kerr IB, Bodmer WF, Gannon JV, et al. p53 mutations in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:7555-9.
 56. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 1991;351:453-6.
 57. Molleví DG, Serrano T, Ginestà MM, Valls J, Torras J, Navarro M, et al. Mutations in TP53 are a prognostic factor in colorectal hepatic metastases undergoing surgical resection. *Carcinogenesis* 2007;28:1241-6.
 58. Chang SC, Lin JK, Yang SH, Wang HS, Li AF, Chi CW. Relationship between genetic alterations and prognosis in sporadic colorectal cancer. *Int J Cancer* 2006;118:1721-7.
 59. Choi SW, Lee KJ, Bae YA, Min KO, Kwon MS, Kim KM, et al. Genetic classification of colorectal cancer based on chromosomal loss and microsatellite instability predicts survival. *Clin Cancer Res* 2002;8: 2311-22.
 60. Petersen S, Thames HD, Nieder C, Petersen C, Baumann M. The results of colorectal cancer treatment by p53 status: treatment-specific overview. *Dis Colon Rectum* 2001;44:322-34.
 61. Barratt PL, Seymour MT, Stenning SP, Georgiades I, Walker C, Birbeck K, et al. DNA markers predicting benefit from adjuvant fluorouracil in patients with colon cancer: a molecular study. *Lancet* 2002;360:1381-91.
 62. Kim H, Jen J, Vogelstein B, Hamilton SR. Clinical and pathological characteristics of sporadic colorectal carcinomas with DNA replication errors in microsatellite sequences. *Am J Pathol* 1994;145:148-56.
 63. Samowitz WS, Curtin K, Ma KN, Schaffer D, Coleman LW, Leppert M, et al. Microsatellite instability in sporadic colon cancer is associated with an improved prognosis at the population level. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:917-23.
 64. Wright CM, Dent OF, Barker M, Newland RC, Chapuis PH, Bokey EL, et al. Prognostic significance of extensive microsatellite instability

- in sporadic clinicopathological stage C colorectal cancer. *Br J Surg* 2000;87:1197-202.
65. Gafà R, Maestri I, Matteuzzi M, Santini A, Ferretti S, Cavazzini L, et al. Sporadic colorectal adenocarcinomas with high-frequency microsatellite instability. *Cancer* 2000;89:2025-37.
 66. Prall F, Dührkop T, Weirich V, Ostwald C, Lenz P, Nizze H, et al. Prognostic role of CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes in stage III colorectal cancer with and without microsatellite instability. *Hum Pathol* 2004;35:808-16.
 67. Phillips SM, Banerjea A, Feakins R, Li SR, Bustin SA, Dorudi S. Tumour-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer with microsatellite instability are activated and cytotoxic. *Br J Surg* 2004;91:469-75.
 68. Dolcetti R, Viel A, Doglioni C, Russo A, Guidoboni M, Capozzi E, et al. High prevalence of activated intraepithelial cytotoxic T lymphocytes and increased neoplastic cell apoptosis in colorectal carcinomas with microsatellite instability. *Am J Pathol* 1999;154:1805-13.
 69. Guidoboni M, Gafà R, Viel A, Doglioni C, Russo A, Santini A, et al. Microsatellite instability and high content of activated cytotoxic lymphocytes identify colon cancer patients with a favorable prognosis. *Am J Pathol* 2001;159:297-304.
 70. Koi M, Umar A, Chauhan DP, Cherian SP, Carethers JM, Kunkel TA, et al. Human chromosome 3 corrects mismatch repair deficiency and microsatellite instability and reduces N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine tolerance in colon tumor cells with homozygous hMLH1 mutation. *Cancer Res* 1994;54:4308-12.
 71. Fink D, Nebel S, Aebi S, Zheng H, Cenni B, Nehmé A, et al. The role of DNA mismatch repair in platinum drug resistance. *Cancer Res* 1996;56:4881-6.
 72. Griffin S, Branch P, Xu YZ, Karran P. DNA mismatch binding and incision at modified guanine bases by extracts of mammalian cells: implications for tolerance to DNA methylation damage. *Biochemistry* 1994;33:4787-93.
 73. Karran P, Hampson R. Genomic instability and tolerance to alkylating agents. *Cancer Surv* 1996;28:69-85.
 74. Meyers M, Wagner MW, Hwang HS, Kinsella TJ, Boothman DA. Role of the hMLH1 DNA mismatch repair protein in fluoropyrimidine-mediated cell death and cell cycle responses. *Cancer Res* 2001;61:5193-201.
 75. Arnold CN, Goel A, Boland CR. Role of hMLH1 promoter hypermethylation in drug resistance to 5-fluorouracil in colorectal cancer cell lines. *Int J Cancer* 2003;106:66-73.
 76. Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, Thibodeau SN, French AJ, Goldberg RM, et al. Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 2003;349:247-57.
 77. Carethers JM, Smith EJ, Behling CA, Nguyen L, Tajima A, Doctolero RT, et al. Use of 5-fluorouracil and survival in patients with microsatellite-unstable colorectal cancer. *Gastroenterology* 2004;126:394-401.
 78. Elsaleh H, Powell B, McCaul K, Grieu F, Grant R, Joseph D, et al. P53 alteration and microsatellite instability have predictive value for survival benefit from chemotherapy in stage III colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001;7:1343-9.
 79. Kim GP, Colangelo LH, Wieand HS, Paik S, Kirsch IR, Wolmark N, et al. Prognostic and predictive roles of high-degree microsatellite instability in colon cancer: a National Cancer Institute-National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Collaborative Study. *J Clin Oncol* 2007;25:767-72.
 80. Jass JR, Biden KG, Cummings MC, Simms LA, Walsh M, Schoch E, et al. Characterisation of a subtype of colorectal cancer combining features of the suppressor and mild mutator pathways. *J Clin Pathol* 1999;52:455-60.
 81. Whitehall VL, Walsh MD, Young J, Leggett BA, Jass JR. Methylation of O-6-methylguanine DNA methyltransferase characterizes a subset of colorectal cancer with low-level DNA microsatellite instability. *Cancer Res* 2001;61:827-30.
 82. Kohonen-Corish MR, Daniel JJ, Chan C, Lin BP, Kwun SY, Dent OF, et al. Low microsatellite instability is associated with poor prognosis in stage C colon cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:2318-24.
 83. Wright CM, Dent OF, Newland RC, Barker M, Chapuis PH, Bokey EL, et al. Low level microsatellite instability may be associated with reduced cancer specific survival in sporadic stage C colorectal carcinoma. *Gut* 2005;54:103-8.
 84. Samowitz WS, Albertsen H, Herrick J, Levin TR, Sweeney C, Murtaugh MA, et al. Evaluation of a large, population-based sample supports a CpG island methylator phenotype in colon cancer. *Gastroenterology* 2005;129:837-45.
 85. Ogino S, Odze RD, Kawasaki T, Brahmandam M, Kirkner GJ, Laird PW, et al. Correlation of pathologic features with CpG island methylator phenotype (CIMP) by quantitative DNA methylation analysis in colorectal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2006;30:1175-83.
 86. Jass JR. Classification of colorectal cancer based on correlation of clinical, morphological and molecular features. *Histopathology* 2007;50:113-30.

87. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet* 2006;38:787-93.
88. Ogino S, Kawasaki T, Kirkner GJ, Kraft P, Loda M, Fuchs CS. Evaluation of markers for CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer by a large population-based sample. *J Mol Diagn* 2007;9:305-14.
89. Lee S, Cho NY, Yoo EJ, Kim JH, Kang GH. CpG island methylator phenotype in colorectal cancers: comparison of the new and classic CpG island methylator phenotype marker panels. *Arch Pathol Lab Med* 2008;132:1657-65.
90. Duffy MJ, van Dalen A, Haglund C, Hansson L, Holinski-Feder E, Klapdor R, et al. Tumour markers in colorectal cancer: European Group on Tumour Markers (EGTM) guidelines for clinical use. *Eur J Cancer* 2007;43:1348-60.
91. Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:5313-27.