

Cancer

▶ 암세포

세포의 성장과정을 조절하는 유전자에 후천적인 변이 발생

-> 조절기능 상실 -> 무한정 복제로 인한 암세포 증가

-> 양성에서 악성으로 형질전환 -> 조직 침투 및 전이 -> 정상 조직의 기능 방해

▶ 암 발생 과정의 분자생물학적 연구 -> 새로운 분자의학적 치료법 개발에 응용

: DNA mt.에 의한 암 발생

: DNA repair system의 오류

: 암유전자(Oncogene) & 암억제유전자(Antioncogene) 발견

❖ Cancer

: 암유전자와 암억제유전자의 이상 동반

암 형성 과정의 다단계

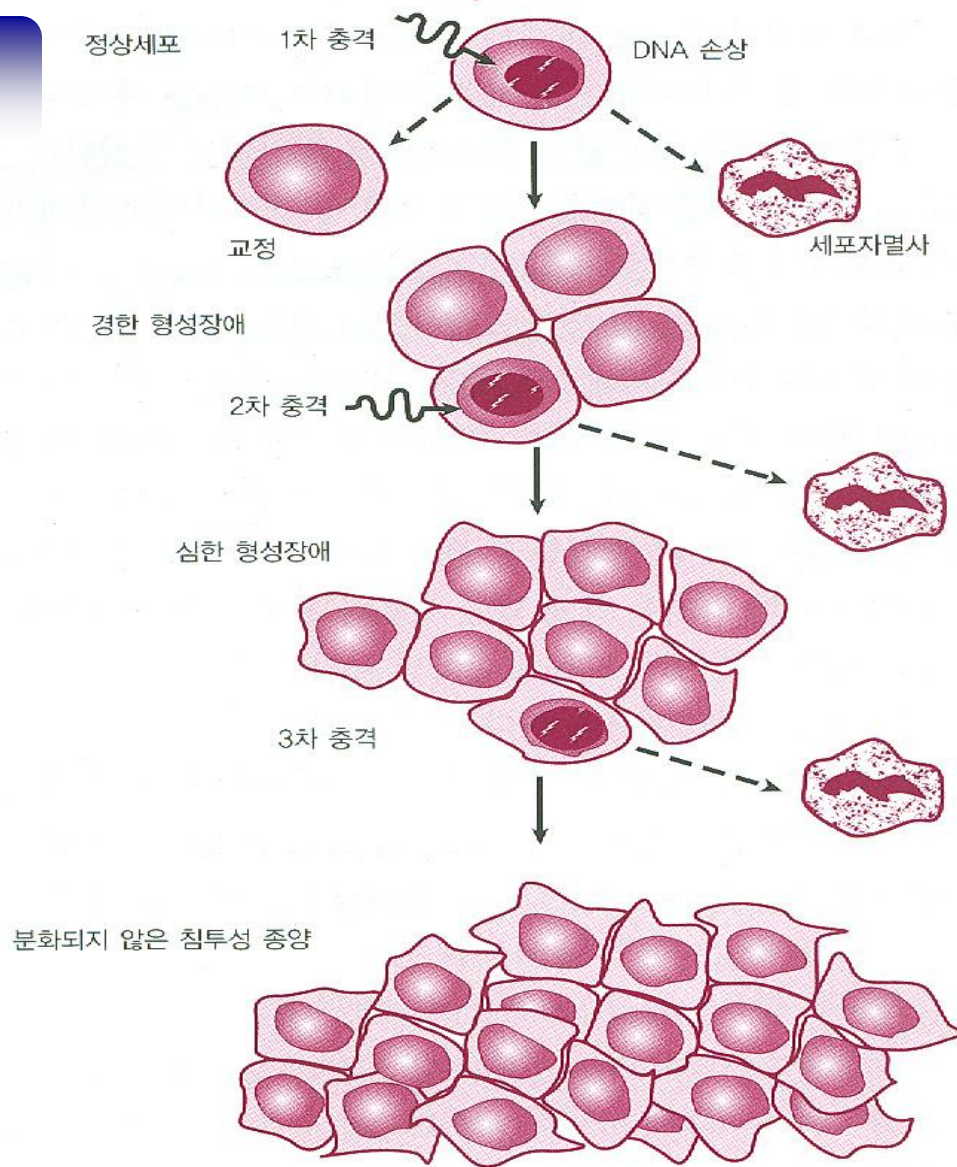


그림 7-1. 다단계의 종양 형성 과정으로 처음에는 정상 세포가 자신의 DNA에 손상을 받으면서 종양이 형성되기 시작한다. 손상을 받은 대부분의 세포는 손상 받은 DNA가 교정되지 않으면 죽거나 세포자멸사에 의해 제거된다. 드물게 교정되지 않은 세포는 살아남게 되는데 이 세포가 다시 2차의 타격을 받으면 첫 번째 경우와 같은 과정을 밟게 되어 일부의 변형된 세포가 살아남는다. 이 세포들이 다시 3차의 타격을 받게 되고 살아남으면 침투성의 종양세포로 변하게 된다.

암유전자

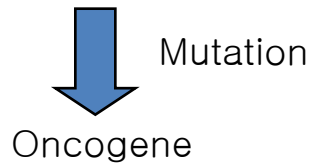
종양세포와 종양 형성과 관련된 바이러스에서 발견됨
바이러스에서 유래..?

❖ Retrovirus의 경우

: 숙주의 체세포로부터 획득

: 재감염 시, 숙주세포의 성장 규제 해제에 이용 -> 바이러스 증식

➤ Proto-oncogene : 정상세포의 신호전달체계에서 중요한 기능 수행



➤ '암 유전자 (oncogene)'

기능	유전자	발현하는 암의 종류
성장인자 또는 성장인자 수용체에 작용하는 유전자	PDGF erb-B Erb-B-2 RET	뇌종양(glioma) 뇌종양(glioblastoma), 유방암 유방암, 침샘암, 난소암 갑상선암
신호전달에 작용하는 유전자	Ki-ras N-ras	폐암, 난소암, 소장암, 췌장암 백혈병
진사과정에서 성장을 자극하는 유전자	C-myc N-myc L-myc	백혈병, 유방암, 위암, 폐암, Burkitt's lymphoma 등 신경세포암, 뇌암 등 폐암
Apoptosis를 방지하는 유전자	Bcl-2	B cell lymphoma
세포주기를 자극하는 유전자	Bcl-1(PRAD1)	유방암, 편평상피암
P53과 역작용하는 유전자	MDM2	육종(Sarcoma)

〈표 5〉기능별 암 유전자

표 7-1. 여러 종류의 암유전자의 예

암유전자	세포 신호전달체계	종양
<i>abl</i>	세포막에서 신호전달 티로신 키나제	만성골수성백혈병
<i>erbB</i>	세포막에서 신호전달 티로신 키나제	유방암
<i>K-ras</i>	세포질 내 단백질 구아노신 삼인산 (guanosine triphosphate, GTP) 결합	췌장암, 폐암
<i>myc</i>	핵 전사인자	급성골수성백혈병
<i>sis</i>	혈소판유래성장 인자 (platelet-derived growth factor, PDGF)	?

암억제유전자

일반적으로 손상 받은 DNA repair에 관여함
 유전적 소인에 의해 암 발생 가계에서 발견됨

❖ Anti-Oncogene

: 암유전자와 반대 기능 수행

즉, 암유전자의 기능 항진

암억제유전자의 기능 억제

암 발생

표 7-3. 암억제 유전자의 예

유전자	유전성 증후군	종양
APC	가족색소폴립증	폴립과 대장암
BRCA1, 2	가족성유방암	유방암
hMSH2	유전성비폴립대장	대장암
p53	리-푸라우메니(Li-Fraumeni)	모든 종양의 50%
RB1	망막모세포종	골육종

유전자	발견	염색체위치	유전성종양	비유전성 종양	유전자 산물의 기능	세포내 위치
Rb	1986	13q14	망막아세포종	골육종폐암 등	전사제어, 세포주기 조절	핵
P53	1989	17p13	Li-Fraumeni 증후군	대부분의 모든 종양	전사제어, 세포주기 조절, 세포사, 유전자 안정성	핵
WT1	1990	11p13	?	신아종(腎芽腫)	전사제어	핵
NF1	1990	17q11	다발성 신경 선유종증 I	신경아종 악성 흑색종 등	신호전달	세포질
APC	1991	5q21	가족성 대장 polyposis	대장암, 위암 췌장암	세포골격	세포질
VHL	1993	3q25	von Hipel Lindan병	신장암, 혈관 이세포종 등	전사억제	핵
NF2	1993	22q12	다발성 신경 선유종증 II	골수막종 신경아종	세포접착	세포막?
P16	1994	9p21	가족성 악성 흑색종	악성 흑색종, 신장암	세포주기 조절	핵
BRCA1	1994	17q21	가족성 유암, 난소암	난소암		핵?
BRCA2	1995	13q12-13	가족성 유암			

〈표 6〉 사람의 암 억제 유전자

➤ P53

- 손상 받은 DNA의 교정을 감독
- G1/S check point에서 세포분열 지연 → DNA repair or apoptosis
- Ex) Li-Fraumeni 증후군

: 두 개의 P53 유전자 중 하나에 부분 돌연변이 유전 → p53의 손상은 추가 돌연변이 유도

- 종양의 약 50%에서 P53 변이 발견됨 → p53 돌연변이 암세포 특이적인 치료법 개발 중
- p53의 mt. 단백질은 대사속도가 늦어 체내에 머무는 시간이 김
- p53 발현 정도를 측정하여 종양의 예후 및 치료에 응용

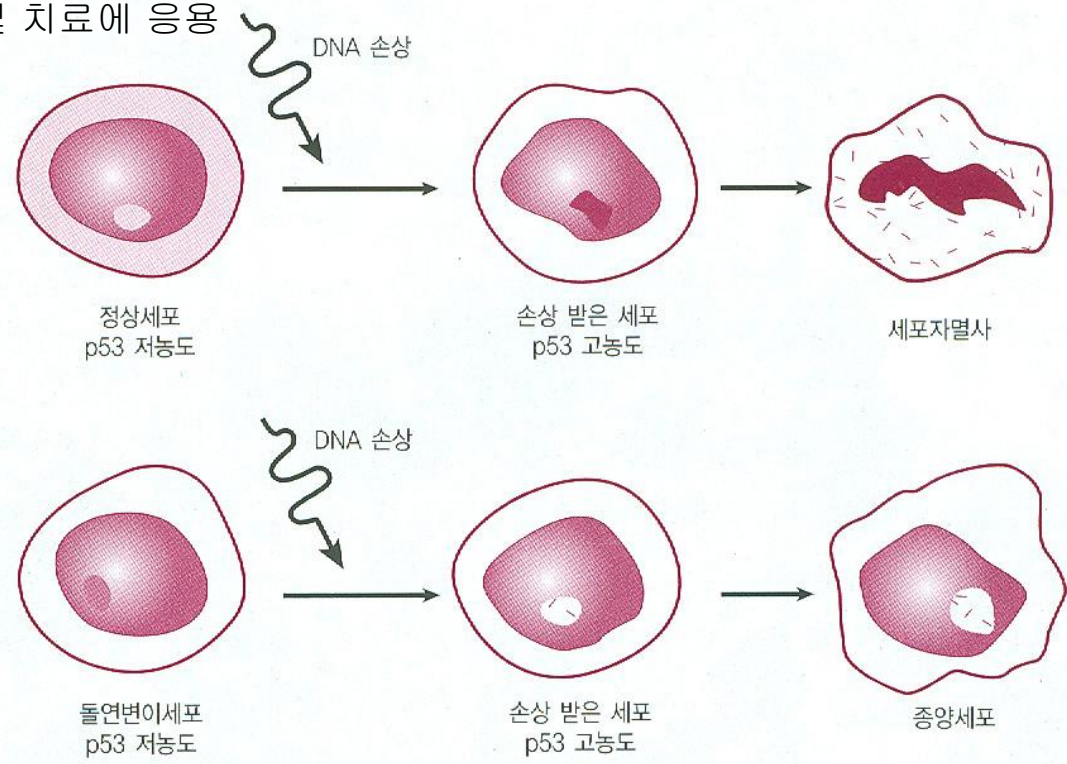


그림 7-3. DNA 손상을 받은 후에 정상적인 p53과 돌연변이 p53이 있는 각 경우의 세포의 운명.

표 7-2. 암유전자와 암억제 유전자의 특징

암유전자

바이러스 형태가 존재한다

우성의 형태로 작용한다

대립유전자 중 하나의 돌연변이가 종양에서 발견된다

유전자 산물인 단백질은 세포의 성장을 촉진한다

종양에서 과다 기능으로 돌연변이를 일으킨다

부모로부터 유전받지 않고 체세포

돌연변이로 돌연변이를 획득한다

암억제 유전자

바이러스에 존재하는 상대적인 유전자가 없다

열성의 형태로 작용한다

대립유전자 중 두 유전자의 돌연변이가 종양에서 발견된다

유전자 산물인 단백질은 세포의 성장을 억제한다

종양에서 비활성화로 돌연변이를 일으킨다

부모로부터 유전받거나 체세포 돌연변이로

돌연변이를 획득한다

Angiogenesis (혈관 생성)

- 종양의 특정 혈관생성 성장 인자 억제 -> 항암효과
- Ex) thalidomide
 - : 비특이적인 혈관생성 억제제
 - : 폐암 치료제로 임상 시험 중

조직 침투와 전이

- 전이 시, 분해효소(collagenase, plasminogen, kathepsin, hyaluronidase, etc.) 분비
- 종양의 생물학적 marker
 - Ex) kathepsin D
 - : 유방암에서 종양의 조직침투성에 비례하여 증가하는 단백질분해효소임
- 새로운 항암치료의 target으로..

암 형성의 다단계 모델

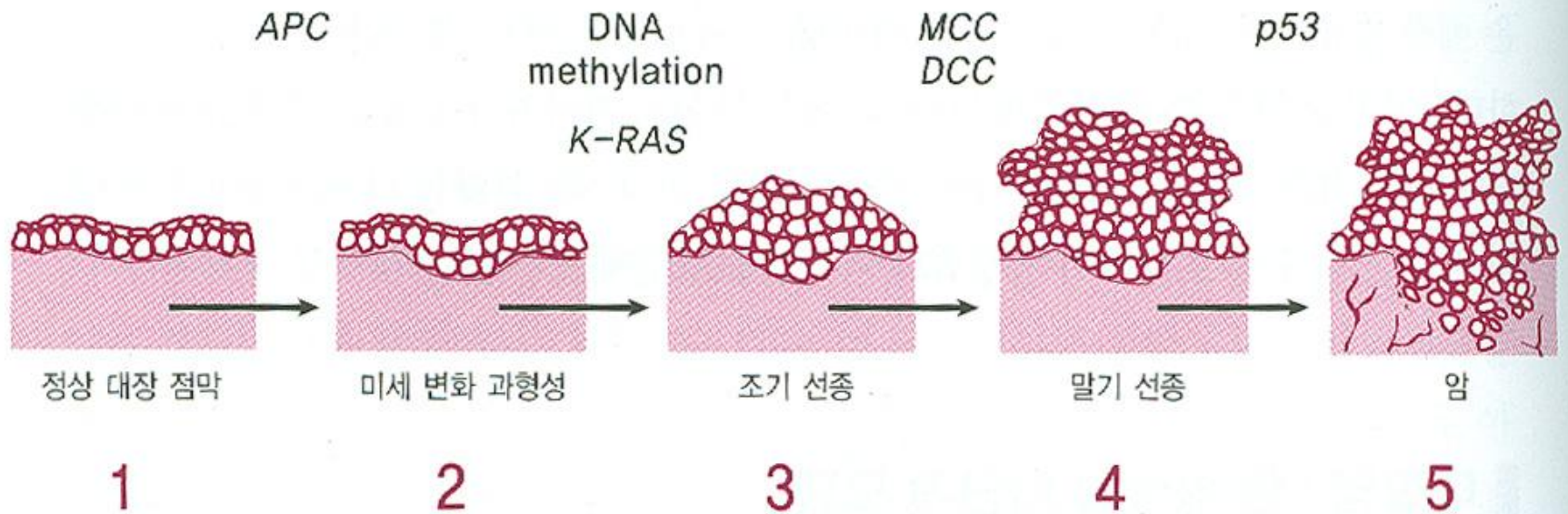
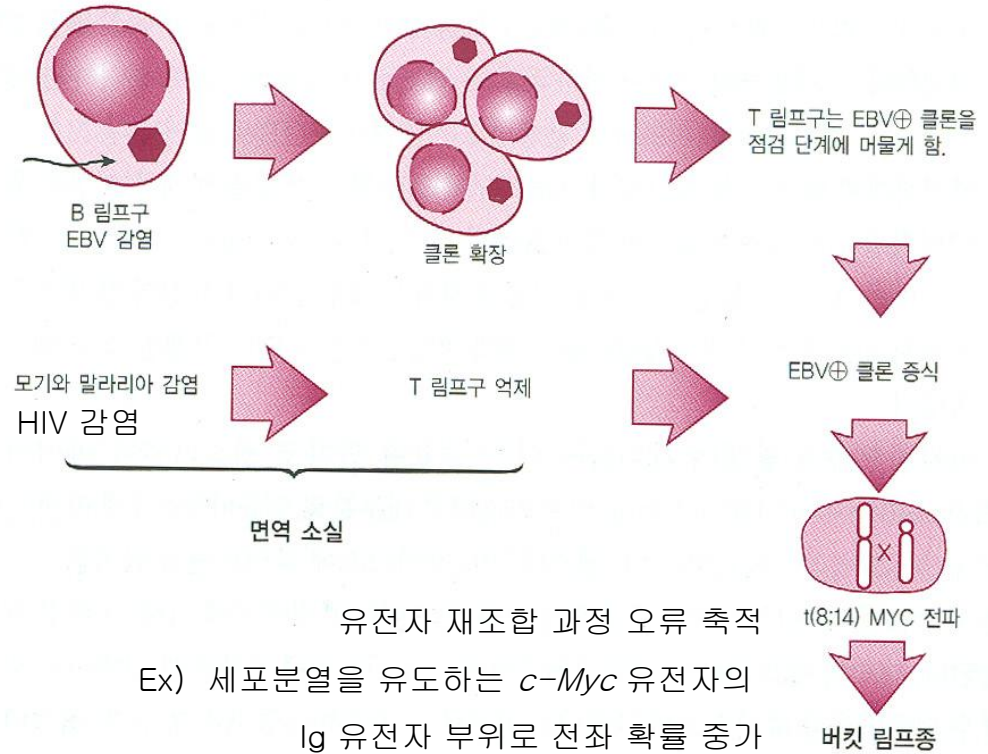


그림 7-6. 대장암의 분자학적 진화는 돌연변이의 연속에 의하여 각각의 돌연변이는 육안적인 조직의 변화를 동반한다.

암 형성에 관여하는 바이러스의 역할

Ex) HPV (Human Papilloma Virus)

- : HPV 장기 감염 시 -> 자궁경부편평세포암종 발생
- : E6 (p53 기능 방해 -> DNA repair 없이 S기로 진입 -> DNA 오류 축적)
- : E7 (암억제유전자인 RB 기능 방해)
- : 일반적으로, 감염된 바이러스 DNA를 p53에 의해 비정상적으로 인지 -> 세포분열 정지
- : DNA 백신으로 예방 및 치료 가능



Ex) EBV (Epstein-Bar Virus)

: Burkitt lymphoma 유도

Ex) 세포분열을 유도하는 *c-Myc* 유전자의

Ig 유전자 부위로 전좌 확률 증가

그림 7-10. 버킷림프종은 웨스턴바이러스의 감염, T 세포성 면역의 손실 그리고 MYC 유전자의 전이와 같은 다단계 과정을 걸쳐 발생한다.

암의 진단 요법

- ✓ 암조직의 체세포 돌연변이 검출을 위해 개발
: PCR-SSCP → re-PCR → DNA sequencing

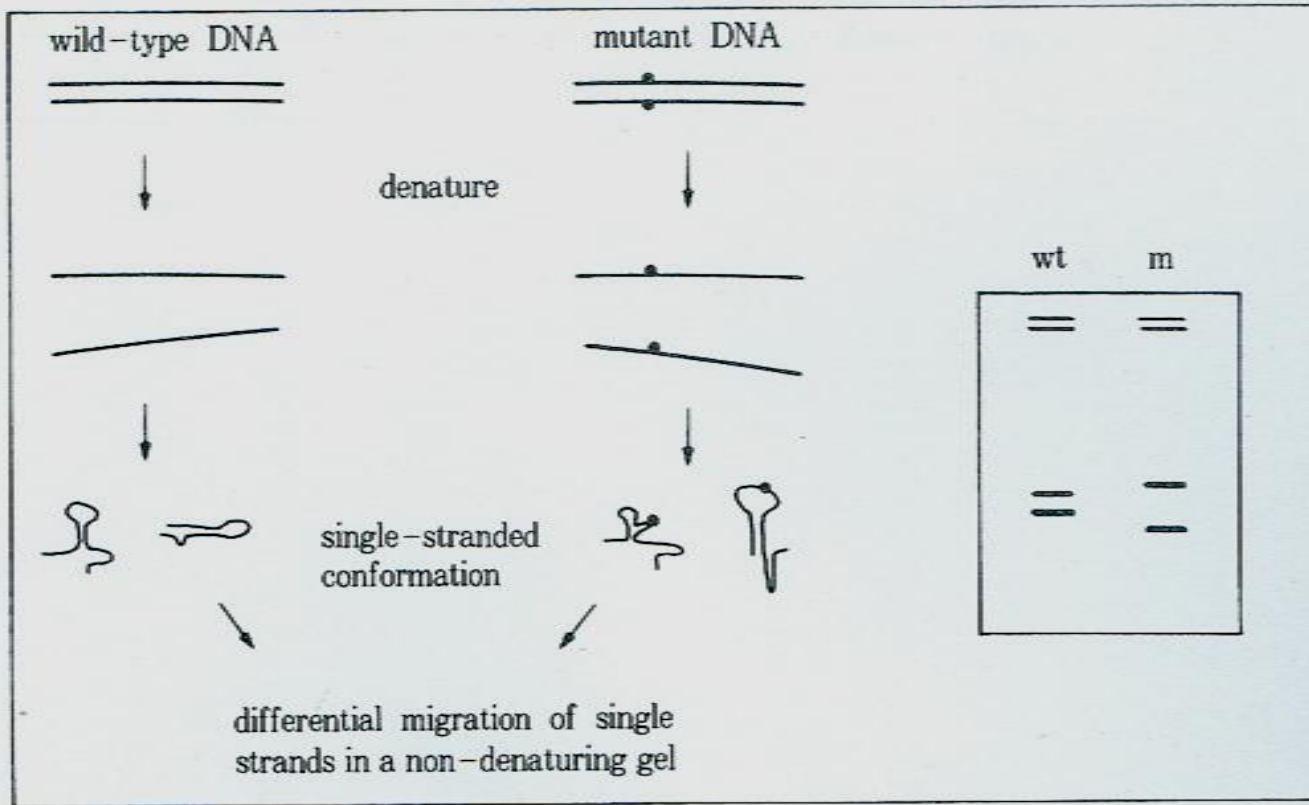
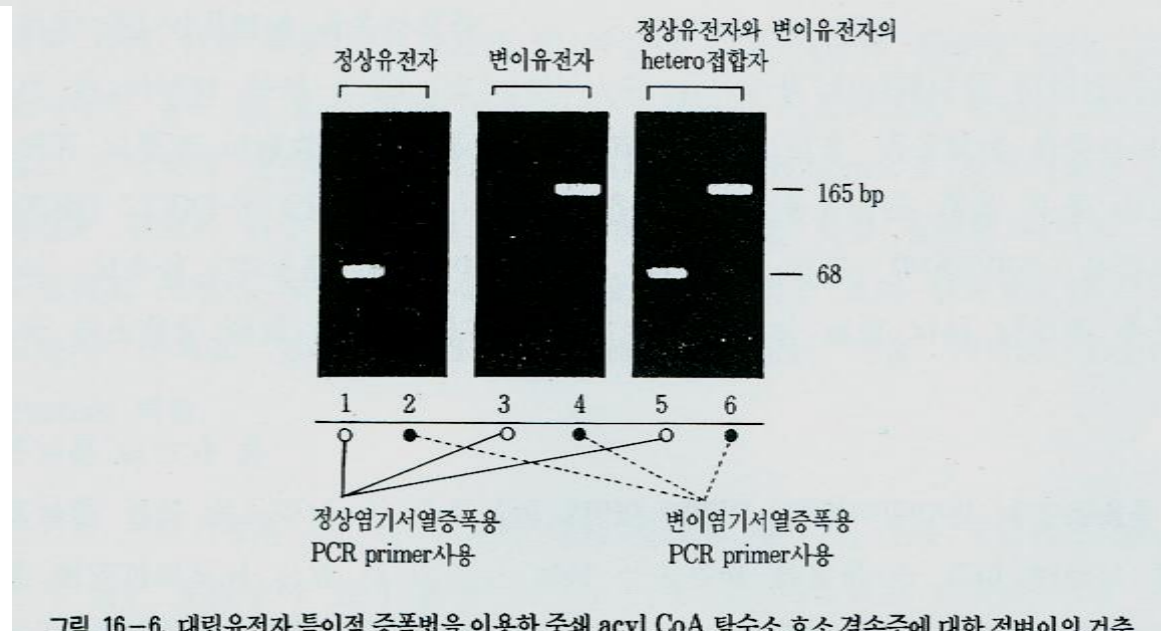
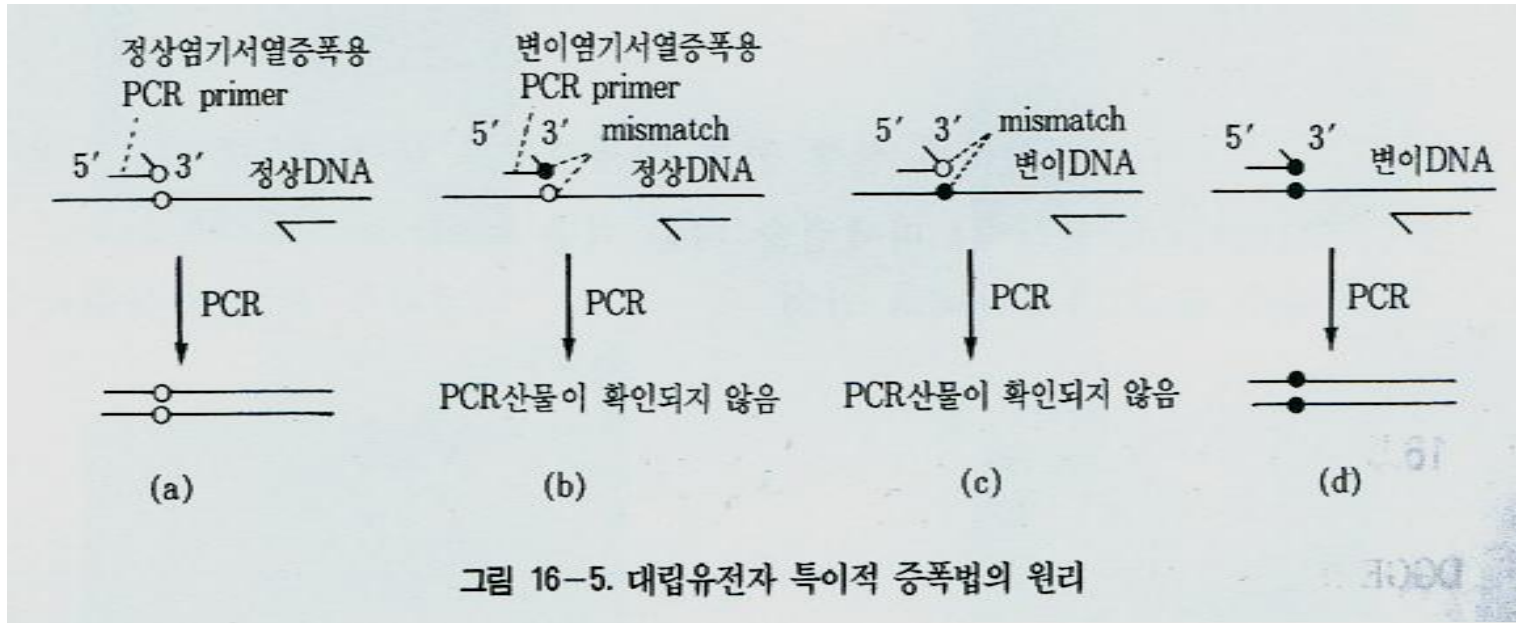


그림 13-1. PCR-SSCP의 원리

➤ Point Mutation 등 유전자 변이 검출법

✓ ARMS (amplification refractory mutation system)

✓ PASA (PCR-amplification of specific alleles)



암의 분자 요법

- ❖ 암유전자와 암억제유전자의 돌연변이 -> 항암치료 시, target으로..
- ❖ 하나, 유전공학적 기법으로 돌연변이 유전자 교정
- ❖ 두울, 돌연변이 유전자의 transcription과 translation 단계에서 억제
- ❖ 세엣, 돌연변이 유전자의 산물인 암단백질을 항체를 사용하여 기능 억제

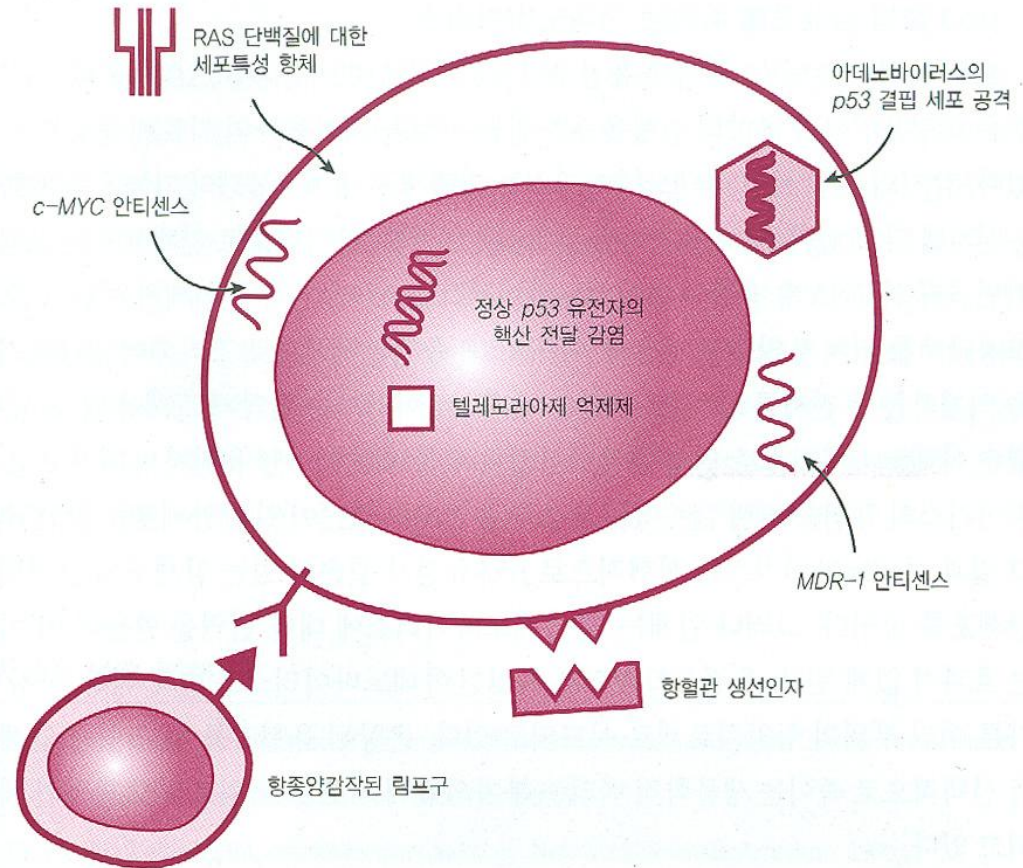


그림 7-11. 항암 치료의 목표가 되는 많은 새로운 분자들이 있다. 비정상적인 활동을 하는 분자들의 기능을 교정, 억제, 제거하여 항암치료의 효과를 얻을 수 있다.

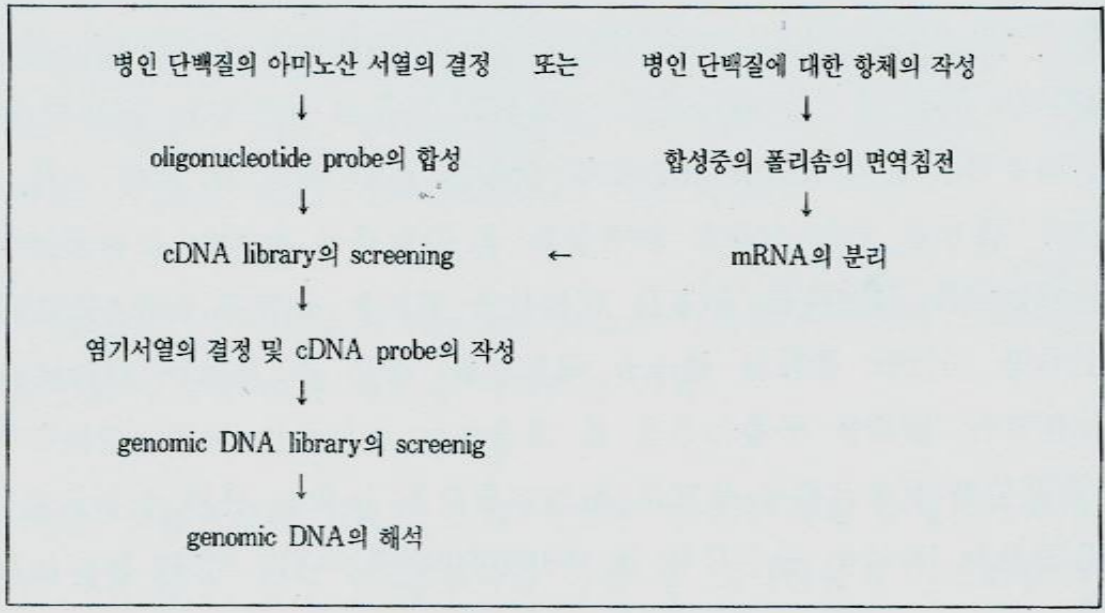


그림 19-1. DNA진단의 수법(1)-병인 단백질이 특정한 경우

DNA 진단

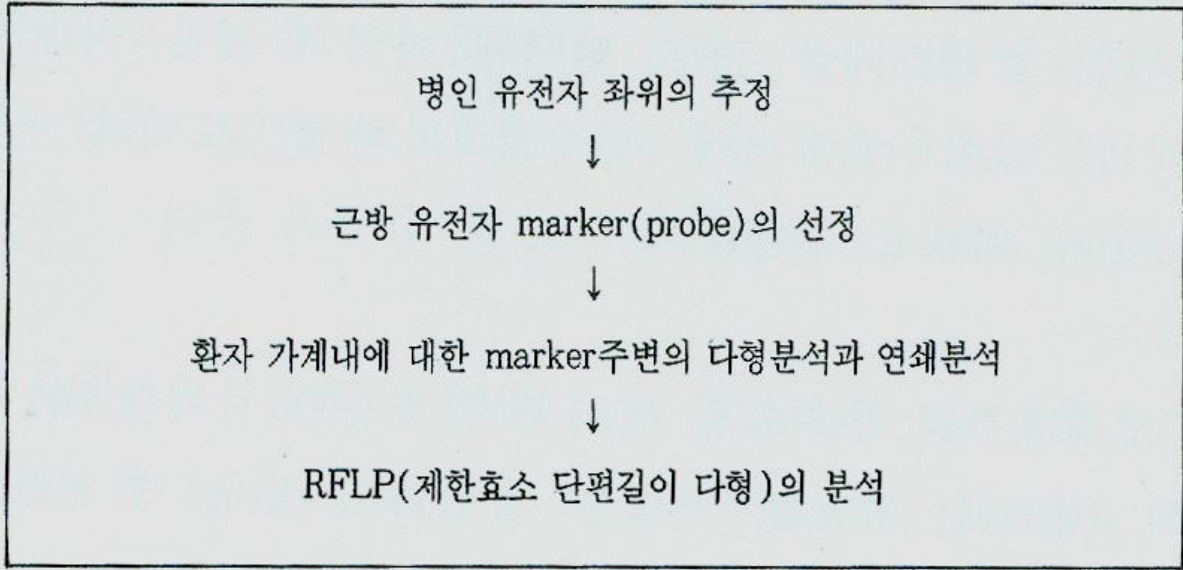


그림 19-2. DNA진단의 수법(2)-병인 단백질이 특정하지 않은 경우

➤ Cell viability

The measurement of cell viability and growth (proliferation)

- drug sensitivity, cytotoxicity, response to growth factors, etc.

Trypan blue staining

: a simple way to evaluate cell membrane integrity

not sensitive

(and thus assume cell proliferation or death)

MTT assay

: the reduction of yellow tetrazolium salt (MTT)

to form insoluble purple formazan crystals

by the "succinate-tetrazolium reductase" system

(only active in metabolically intact cells)

Measuring the uptake of radioactive substances

: usually tritium-labeled thymidine,

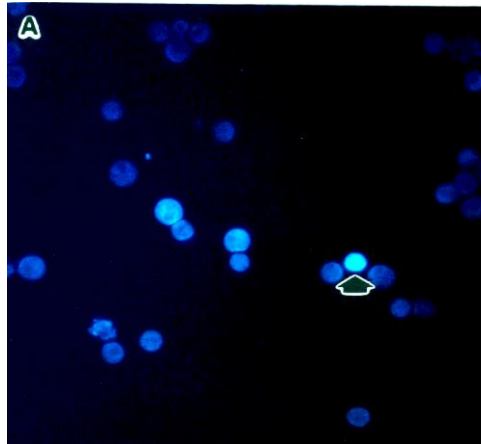
accurate

but it is also time-consuming & handling of radioactive sub.

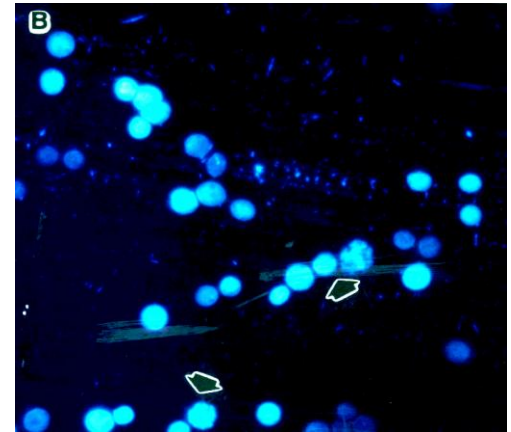
➤ **Apoptosis** : in tumor cell as the subject of study

Chromatin condensation, nuclear condensation

: Hoechst (H33258) 형광 dye



(A) Normal cells

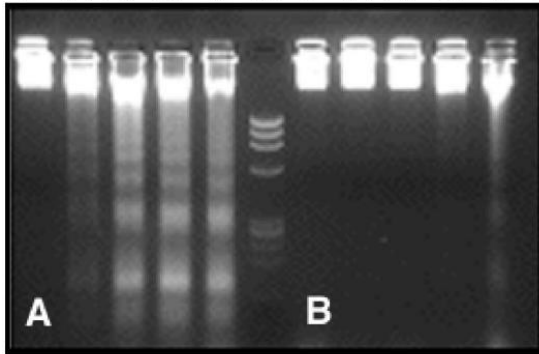


(B) Arrows indicate apoptotic cells

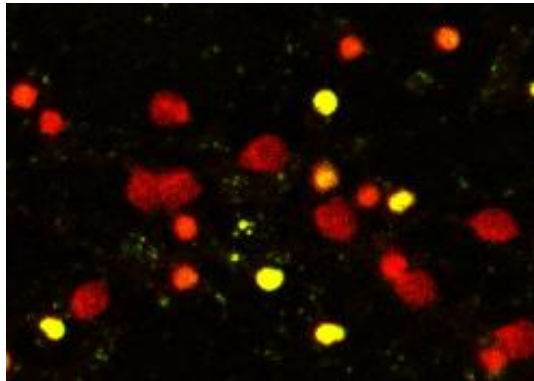
DNA fragmentation

agarose gel에 의한 detection :

C 12 24 36 48 M C 12 24 36 48 (h)



형광 염색에 의한 detection :



TUNEL-assay for the cerebellar granule cells (red) with fragmented chromatin (yellow) in the primary culture