

데이터마이닝 기반 과불화화합물 노출 간암세포주(HepG2)의 차등 발현 유전자 및 생물학적 경로 분석 연구

이현정, 양소영*, 임길택, 송윤정, 최은창
한국전자통신연구원

ehj1224@etri.re.kr, *syayang@etri.re.kr, ktl@etri.re.kr, yjsong@etri.re.kr, ecchoi@etri.re.kr

Data-driven Gene Expression Profiling of PFAS-Exposed HepG2 Cells for Biomarker Discovery

Lee Hyeonjeong, Soyoung Yang*, Lim Kil Taek, Song Yun Jeong, Choi Eun Chang
Electronics and Telecommunications Research Institute (ETRI)

요약

본 연구는 과불화화합물 중 하나인 과불화옥탄산(PFOA)이 간암세포주(HepG2)의 전사체에 미치는 영향을 탐색하였다. RNA-seq 데이터의 PFOA 노출군과 대조군을 비교하여 차등 발현 유전자를 도출하고 생물학적 경로 분석을 수행함으로써, 차등 발현 유전자들이 암의 진행 및 전이에 관여하는 경로와 연관됨을 확인하였다. 이는 과불화화합물이 간암의 악성화에 영향을 줄 수 있음을 시사하며, 향후 암 진행 관련 잠재적 바이오마커 후보로서 가능성을 보여준다.

I. 서론

과불화화합물(Per and polyfluoroalkyl substances, PFAS)은 유기 불소계 화합물의 일종으로, 높은 화학적 안정성과 우수한 물리적 특성을 지니고 있어 반도체, 자동차 산업은 물론 일상생활용품까지 다양한 산업 분야에서 활용되고 있다[1]. 그러나 난분해성 특성으로 인해 자연, 인간, 생물체, 식품 등에 잔류하며, 체내에 축적될 경우 발암 가능성 증가 및 호르몬 교란 등 인체 건강에 여러 문제를 유발한다고 알려져 있다. 특히 대표적인 과불화화합물 중 하나인 과불화옥탄산(Perfluorooctanoic acid, PFOA)은 간을 주요 표적 장기로 하며 대사이상, 간독성, 발암과의 연관성이 여러 연구에서 제기되었다 [2, 3].

본 연구에서는 PFOA 노출에 따른 간암세포주(HepG2)의 유전자 발현 데이터를 분석하여 과불화화합물의 간암 관련 독성 기전을 탐색하고자 하였다. 이를 위해 PFOA 처리군과 대조군에 대한 RNA sequencing (RNA-seq) 데이터를 획득하고, 통계 기반 차등 발현 유전자를 발굴 및 이와 관련된 생물학적 경로를 분석함으로써, PFOA 노출이 HepG2 세포의 유전자 발현에 어떠한 변화를 유도하는지 확인하였다.

II. 본론

간암세포주인 HepG2 를 대상으로 PFOA 를 125 μ M 농도로 37 $^{\circ}$ C에서 24 시간 처리하였으며, 동일 조건에서 Dimethyl sulfoxide(DMSO)를 처리한 세포를 대조군으로 설정하였다. 각 실험은 2 회 반복으로 수행하였다. 이후 RNA-seq 을 통해 PFOA 노출에 따른 유전자 발현 데이터를 획득하였다. 총 27,948 개의 유전자 중 하나 이상의 샘플에서 발현값이 0 인 9,469 개 유전자는 실험에서 제외하였으며, 최종적으로 18,476 개 유전자를 대상으로 분석을 수행하였다.

대조군과 처리군에서의 유전자 발현 양상을 분석하여 PFOA 가 간암세포에 미치는 생물학적 경로 및 잠재적 바이오마커 후보를 도출하기 위해, read count 데이터에서 edgeR 기반 차등 발현 유전자(Differentially expressed gene, DEG) 분석을 수행하였다. 통계적 유의 수준은 $p\text{-value} < 0.05$, $|\log_2\text{FC}| \geq 1$ 로 설정하였다. 총 180 개의 DEG 가 PFOA 노출에 따른 유의미한 발현 차이를 보였다. 이 중 111 개 유전자는 PFOA 처리 시 상향 발현, 69 개 유전자는 하향 발현을 나타냈다.

추가적으로 다중검정(FDR<0.1)을 적용한 결과 상향 및 하향 발현 유전자를 각 18 개, 22 개로 확인하였다.

그림 1 은 DEG 유전자 발현 패턴을 heatmap 으로 시각화 하였다. 총 180 개의 DEG 에서 PFOA 처리군과 대조군 간 뚜렷한 발현 차이가 나타났으며, 이는 PFOA 노출이 HepG2 세포의 유전자 발현 패턴을 변화시켰음을 의미한다.

이어서 DEG 가 관여하는 생물학적 기능과 경로를 해석하기 위해 GO 및 KEGG 분석을 수행하였다. 상향 발현된 유전자의 GO 분석 결과, 조직 형태 형성 및 상피세포 분화와 관련된 경로가 상위 생물학적 기능으로 확인되었다. 이는 PFOA 노출이 간세포에서 조직의 재구성과 분화를 유도하여 종양 형성 및 암 발생에 관여할 수 있음을 시사한다. KEGG 분석에서는 총 25 개 경로를 도출하였다. 유의수준 기준으로 상위에 해당하는 PI3K-Akt signaling pathway 는 5 개 DEG 를 포함하였다. 이 경로는 암세포의 생존 및 성장과 밀접한 신호 전달 경로로, PFOA 노출이 암의 진행과 연관되어 있음을 보여준다. 이 외에도 chemical carcinogenesis - receptor activation, notch signaling pathway 등 간 독성 및 조직 분화와 관련된 경로가 확인되어, PFOA 노출이 간암의 악성화 및 발암 과정에 영향을 줄 가능성을 뒷받침하였다.

DEG 분석으로 발굴한 상향 발현된 유전자 중 일부는 간암과 밀접한 연관성을 가진 것으로 알려져 있다. 특히 MLPH, COL6A2, TNFSF12-TNFSF13 유전자들은 세포 이동성, 상피-중간엽 전이, 신호전달 조절 등 암의 진행과 전이에 관여하는 기능을 포함하고 있다. 이는 PFOA 노출이 해당 유전자들의 발현을 증가시킴으로써 간암의 악성화 과정에 관여할 수 있음을 내포하며, 도출된 DEG 들이 향후 암 진행 및 환경 독성 반응 평가를 위한 잠재적 바이오마커 후보로 활용될 가능성을 보여준다.

III. 결론

본 연구는 간암세포주(HepG2) 대상으로 과불화화합물 노출에 따른 유전자 발현 변화를 분석하였다. PFOA 노출군과 대조군에 대한 RNA-seq 데이터 분석을 통해 차등 발현 유전자를 발굴하였고, 이들의 생물학적 경로가 암의 진행 및 전이와 연관되어 있음을 확인하였다. 이는 과불화화합물이 간암 악성화에 관여할 가능성이 있음을 시사하며, 도출된 차등 발현 유전자들은 향후 간암 진행 예측이나 환경 독성 반응 평가에서 잠재적 바이오마커 후보로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

ACKNOWLEDGMENT

This work was supported by an internal fund/grant from the Electronics and Telecommunications Research Institute (ETRI) (24YD1110) and by an ETRI grant funded by the Korean government (25ZD1110).

참 고 문 헌

- [1] Brunn, H., Arnold, G., Körner, W., Rippen, G., Steinhäuser, K. G., Valentin, I. PFAS: forever chemicals—persistent, bioaccumulative and mobile. Reviewing the status and the need for their phase out and remediation of contaminated sites. Environmental Sciences Europe, 35(1), 30, 2023.
- [2] Vujic, E., Ferguson, S. S., Brouwer, K. L. Effects of PFAS on human liver transporters: implications for health outcomes. Toxicological Sciences, 200(2), 213–227, 2024.
- [3] Costello, E., et al. Exposure to per- and polyfluoroalkyl substances and markers of liver injury: a systematic review and meta-analysis. Environmental Health Perspectives, 130(4), 046001, 2022.

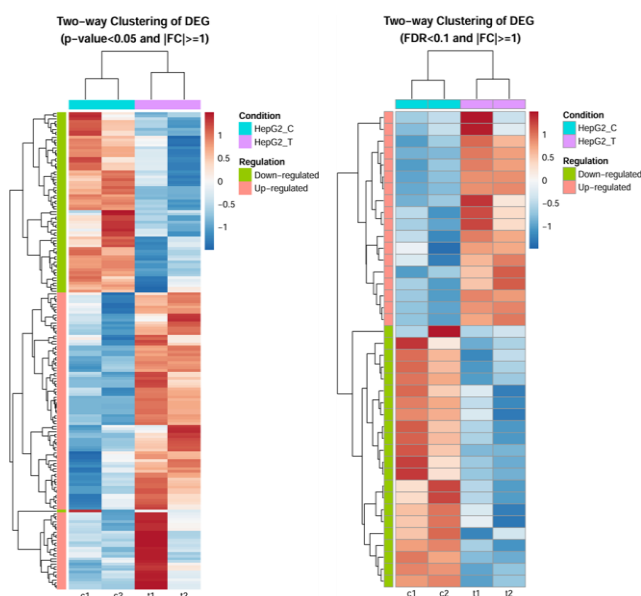


그림 1. DEG 발현 패턴에 대한 Heatmap