

## 타 장기 종양이 병발된 췌관 내 유두상 점액종양에서의 배선 유전자 변이 분석

서울대학교 의과대학 외과학교실, <sup>1</sup>랩지노믹스

안영준 · 장진영 · 이승은 · 황대욱 · 송운섭 · 조대연<sup>1</sup> · 김선희

### Germline Genetic Alterations in Intraductal Papillary Neoplasms Associated with Extrapaneatic Tumors

Young Joon Ahn, M.D., Jin-Young Jang, M.D., Seung Eun Lee, M.D.,  
Dae Wook Hwang, M.D., Yoon Sup Song, Dae-Yeon Cho, Ph.D.<sup>1</sup>, Sun-Whe Kim, M.D.

Department of Surgery, Seoul National University College of Medicine, <sup>1</sup>Labgenomics Clinical Research Institute, Seoul, Korea

**Purpose:** IPMN (Intraductal papillary mucinous neoplasm) is frequently reported in combination with a variety of extrapancreatic tumors. The IPMN in these patients might represent the phenotypes of genes associated with multiple tumor syndrome. The aim of this study was to confirm the presence of germline mutations in the *p53*, *MLH1*, *MSH2*, *BRCA1/2*, and *E-cadherin* genes known to be associated with gastrointestinal malignancies in hereditary tumor syndromes such as Li-Fraumeni syndrome, HNPCC, Hereditary Breast/Ovarian cancer, and Hereditary diffuse gastric cancer.

**Methods:** 14 patients with IPMN with extrapancreatic tumors (6 gastric cancers, 5 colorectal cancers, 1 gastric GIST, 2 hepatocellular carcinomas, 1 AoV cancer) who underwent resection were enrolled in this study. We performed PCR (Polymerase chain reaction) and direct sequencing analysis for the *p53*, *MLH1*, *MSH2* and *CDH-1* genes. Multiplex PCR, F-CSGE (fluorescent conformation sensitive gel electrophoresis) and direct sequencing was performed for *BRCA1/2* genes.

**Results:** We identified two novel mutations in the *p53* gene (exon 1, codon 31, GTC>CTC, Glu→Gln) and the *CDH-1* gene (exon 14, codon 2218, CCC>TCC, Pro→Ser). For *BRCA1*, we identified 11 identical coding SNP (exon 11, codon 3232, AAG>AGG, Glu→Gly) among 13 patients with a high allele frequency (46.1%) compared with the 30.1% reported in Korean breast cancer patients. For *BRCA2*, we identified a coding SNP with an allele frequency of 2.6% (exon 11, codon 2578, AAG>AGG, Met→Val).

**Conclusion:** Germline alterations of the *p53* and *E-Cadherin* genes in IPMN patients with extrapancreatic cancer suggest that IPMN could be a manifestation of multiple tumor syndrome. (J Korean Surg Soc 2009;76:236-245)

**Key Words:** IPMN, Extrapaneatic tumor, Germline mutation

중심 단어: 췌관 내 유두상 점액종양, 췌장 외 종양, 배선 돌연변이

### 서 론

책임저자: 김선희, 서울시 종로구 연건동 28번지

☎ 110-744, 서울대학교병원 외과

Tel: 02-2072-2315, Fax: 02-745-2282

E-mail: sunkim@plaza.snu.ac.kr

접수일 : 2008년 9월 18일, 게재승인일 : 2009년 1월 19일

췌관 내 유두상 점액 종양(intraductal papillary mucinous neoplasm, IPMN)은 1982년 Ohashi 등이 일본에서 처음 보고한 후 국내외에서 많은 증례가 보고되고 있는 췌장 종양의

로 주췌관의 미만성 확장, 점액이나 종괴에 의한 비정형의 음영 결손, 부췌관의 낭성확장, 유두 개구부의 확대 및 다량의 점액이 유두 개구부에서 배출되는 소견 등 독특한 임상적 특징이 있으며, 조직학적으로는 췌관 내에 점액을 분비하는 원주 세포들의 유두상 성장을 특징으로 하는 질환이다. 최관 내 유두상 점액 종양은 조직병리학적으로 약간의 이형성이 있는 세포로 구성된 종양에서부터 확실한 악성을 보이는 심한 이형성을 동반한 세포로 구성된 것까지 다양한 정도의 세포 이형성이 있는 종양이 성장하는 특징과 동일한 환자 내에서도 다양한 정도의 이형성을 보이는 경우, 선종과 침윤성 암종을 동시에 보이는 경우가 있어서 선종-암종 이행과정(adenoma-carcinoma sequence)의 존재를 뒷받침하는 종양으로 생각되고 있다. 최근에는 최관 내 유두상 점액 종양과 전형적인 췌관선암이 함께 존재하는 증례도 보고되고 있어서 최관 내 유두상 점액 종양이 췌관선암의 전구 병변으로 이해되기도 한다. 절제면에 암세포 침윤이 없던 환자의 잔여 췌장에 재발한 사례와 연속되지 않는 위치에서 이소성의 병변의 발견 사례 등을 통하여 볼 때 최관 내 유두상 점액 종양은 다클론성 종양발생기전(polyclonal oncogenesis)을 강력히 시사하는 종양이라고 할 수 있다.

이러한 특징 이외에도 최근에는 최관 내 유두상 점액 종양이 췌장 이외의 다른 장기의 종양과 병발할 확률이 높다는 것이 여러 논문에서 발표되고 있다.(1-8) Jiang 등(1)은 일본에서 처음으로 21예의 환자 중 15예에서 각종 비췌장성 종양의 동반례를 소개하였고 이후 Sugiyama와 Atomi(2)가 처음으로 최관 내 유두상 점액 종양 환자의 비췌장성 종양의 동반을 문헌에 보고하였다. 국내에서는 Seo 등(9)이 처음으로 위암과 병발한 최관 내 유두상 점액 종양의 증례를 보고하였고 Jang 등(10)은 다기관 연구로 208명의 최관 내

유두상 점액 종양 증례를 모아 분석한 결과 5.3%에 해당되는 11명의 환자에서 대장암, 위암 등이 병발한 것을 발표한 바 있으며 Choi 등(7)은 수술을 시행한 61명의 최관 내 유두상 점액 종양 환자와 동일한 기간 내에 수술을 시행한 췌관선암 환자나 점액 낭종 환자를 비교하여 최관 내 유두상 점액 종양에서 비췌장성 종양이 더 높은 빈도로 동반되었음을 발표한 바 있다. Eguchi 등(8)은 최관 내 유두상 점액 종양과 췌관선암의 단순 비교에서 범할 수 있는 오류인 연령과 성별, 수술 후 추적 기간 등의 요인을 통계학적으로 보정한 비교 연구에서 최관 내 유두상 점액 종양 환자에서의 대장암 병발이 유의하게 많았다고 보고하였다. 그 외에도 다수의 발표에서 최관 내 유두상 점액 종양과 췌장 이외 장기 종양의 동반 사례가 보고되고 있다(Table 1).

최관 내 유두상 점액 종양의 25%가 전이를 유발할 수 있는 침윤성 선암으로 이루어졌음에도 불구하고 이들 종양은 췌관선암과 비교할 때 상대적으로 더 좋은 예후를 보이는 것으로 알려져 있다. 최관 내 유두상 점액 종양은 다양한 조직학적 악성도를 나타내지만 췌관선암과는 달리 악성일 경우라도 종종 절제가 가능하고 예후가 양호하여 장기 생존이 가능한 것으로 알려져 있다. 따라서 최관 내 유두상 점액 종양 환자에서 병발하는 비췌장성 종양의 존재는 환자의 예후를 결정짓는 중요한 요소로서 수술 전이나 수술 후에도 체계적으로 관찰할 필요가 있다고 여겨진다.

최관 내 유두상 점액 종양에서 비췌장성 종양의 발생률은 췌관선암에서의 발생률과 비교하여 통계적으로 유의하게 높았는데, 이는 최관 내 유두상 점액 종양에서 비췌장성 종양이 많이 발생하는 것이 결코 우연이 아님을 시사한다. 이와 같은 결과는 최관 내 유두상 점액 종양의 일부에서는 인체 내 다발성 종양을 유발하는 유전자 변이를 가지고 있

Table 1. Reported cases of extrapancreatic tumor associated with IPMN

Cases	Year	IPMN	Extrapancreatic malignancy	%	Associated cancer
Jiang et al.(1)	1996	21	15	71	Colon, esophagus
Sugiyama and Atomi(2)	1999	42	20	48	Colon, stomach
Yamaguchi et al.(3)	2000	48	13	27	Stomach, colon
Suzuki et al.(4)	2004	1,024	262	19	Stomach, colorectal
Jang et al.(5)	2005	208	11	5.3	Colon, stomach, liver pancreas
Kamisawa et al.(6)	2005	79	28	35	Colon, stomach esophagus, lung, pancreas
Choi et al.(7)	2006	61	18	30	Stomach, colorectal
Eguchi et al.(8)	2006	69	26	38	Colorectal, stomach

**Table 2.** Hereditary tumor gene and its associated gastrointestinal cancer

Hereditary tumor	Associated gene	Associated GI cancer (underlined)
Familial adenomatous polyposis HNPCC*	APC <i>hMLH1, hMSH2, hPMS1, PMS2</i> <i>hMSH6, hMLH3, TGF-RII</i>	<u>Colon</u> <u>Colon</u> , endometrium, ovary, <u>stomach</u> , <u>small intestine</u> , <u>liver</u> , <u>GB</u> , brain, skin, urinary tract
Hereditary breast/ovarian cancer	<i>BRCA1, BRCA2</i>	Ovary, prostate, <u>stomach</u> , <u>colon</u> , <u>pancreas</u>
Li-Fraumeni syndrome	<i>p53</i>	<u>Colon</u> , <u>pancreas</u>
Familial gastric cancer	<i>CDH-1</i>	<u>Colorectal</u> , breast

\*HNPCC = hereditary non-polyposis colon cancer.

을 가능성이 매우 높다고 의심할 수 있다. 그러나 아직까지 최관 내 유두상 점액 종양에 대한 증례가 매우 적고, 이와 관련된 유전자 변이에 대한 연구는 체세포 돌연 변이에 관한 연구는 많이 진행된 상황이지만 배선 돌연 변이(germline mutation)에 관한 연구는 세계적으로 전무한 상황이다.

본 연구는 최관 내 유두상 점액 종양이 갖는 생물학적 특성과 췌장 이외의 여러 가지 장기에서 종양이 동반되는 임상적 보고를 근거로 췌장 이외 장기의 종양과 병발한 최관 내 유두상 점액 종양이 다발성 종양을 유발하는 유전자의 다른 하나의 표현형(phenotype)으로서 발현될 수 있다고 생각하였고, 유전성 종양 중 특히 대장암, 위암, 간담도계 암 등 소화기계 종양이 병발한다고 알려진 Li-Fraumeni 증후군, 유전성 비용종성 대장암(Hereditary Non-polyposis colon cancer, HNPCC), 가족성 유방암, 가족성 위암의 유발 유전자인 *p53*, *hMSH2*, *hMLH1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *E-cadherin* (*CDH-1*) 유전자에 대한 배선 돌연변이를 분석하고자 하였다(Table 2).

## 방 법

### 1) 대상 환자 및 병리학적 검토

1996년부터 2003년까지 서울대학교 병원 외과에서 수술을 시행 받고 최관 내 유두상 점액 종양으로 진단 받은 환자 중 췌장 이외의 장기에 악성 종양이 동반되었던 14명의 환자를 대상으로 하였다. 타 장기 종양은 최관 내 유두상 점액 종양에 대한 수술 이전, 수술 중, 수술 후 발견되어 치료한 경우를 모두 포함하였다. 대상이 되는 모든 환자들의 조직 슬라이드를 소화기 병리 의사가 재판독하여 최관 내 유두상 점액 종양 및 타 부위 종양의 병리학적 진단을 재확인하였다.

### 2) DNA 추출

해파린 처리된 50 cc 주사기를 사용하여 환자의 전혈을 채취한 후 15 ml 튜브에 7 ml의 Ficoll (Ficol-paque™ PLUS, Amersham Biosciences) 용액을 넣은 후 그 위에 전혈을 천천히 조심스럽게 넣어 1 : 1로 혼합한다. 4°C, 500 g-force로 45 분간 원심분리를 시행한 후 백혈구연층(buffy coat)만을 따로 수집한다. 백혈구연층을 모은 튜브에 1X PBS (pH 7.8)를 채워 15 ml를 만든 후 원심분리(3,000 rpm, 5분, 4°C)를 시행하여 세척한다. PBS 층을 버리고 남아있는 pellet에 1 ml의 TRIzol로 처리한다. TRIzol로 처리된 샘플을 5분간 vortex해 주고 200  $\mu$ l chloroform 첨가 후 다시 15초간 vortex한 후 실온에 10분간 방치한다. 이후 원심분리를 시행한다(14,000 rpm, 15분, 4°C). 상층만 조심스럽게 수집하여 미리 표기해 둔 튜브에 옮긴다. 밑에 남은 층으로 DNA 정제를 시작한다. 300  $\mu$ l의 100% EtOH를 첨가한 후 15초간 vortex하여 Trizol을 제거하고 실온에서 5분간 방치한다. 14,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심분리하고 pellet 부분만 남기고 상층액은 버린다. 1 ml (0.1 M sodium citrate+10% EtOH)를 첨가한 후 조심스럽게 inversion 해준다. 실온에서 30분간 방치한 후 14,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심분리한다. Pellet 부분만 남기고 상층액은 버린 후 1 ml의 70% EtOH를 넣고 inversion해준다. 14,000 rpm, 4°C에서 15분간 원심분리한다. Pellet을 남기고 상층액을 버린 후 뚜껑을 열고 실온에서 건조한다. 증류수 40  $\mu$ l+Protenase K 10  $\mu$ l를 넣고 피펫으로 풀어준다. 2~3시간마다 vortex하면서 50°C에서 밤새 배양한다. 80°C에서 10분간 배양해준다. DNA 정량하고 -70°C 냉동고에 보관한다.

### 3) *p53* 유전자 변이 검사

PCR 시행 후 cloning한 후 직접 염기 서열 분석(direct sequencing)을 시행하였다. PCR 반응물 조성은 30  $\mu$ m dNTP,

PCR buffer, 1.5 pM each of reverse and forward primer, dH<sub>2</sub>O, 0.5 unit Taq DNA polymerase (GeneCraft, BioTherm™)가 포함되어 있었고 primer는 자체 제작한 것을 사용하였다. PCR은 총 35회 시행하였는데 95°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 1분간 반응 후 72°C에서 7분간 final elongation을 시행하였다.

DNA 변이 분석은 직접 염기 서열 분석으로 ABI 3730 DNA sequencer (Applied Biosystems)에서 Taq dideoxy terminator cycle sequencing kit를 이용하여 염기 서열을 분석하였다. 변이가 확인된 산물에 대하여 pGEM-T Easy vector system (Promega)을 사용하여 Cloning PCR을 시행하여 재확인하였다.

#### 4) *hMLH1*, *hMSH2* 유전자 변이 검사

*hMLH1*, *hMSH2* 유전자의 변이를 검사하기 위해 PCR 및 직접 염기 서열 분석을 시행하였다. PCR 반응은 25  $\mu$ l로 10 mM Tris HCl (pH 8.3), 50 mM KCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.5 units of recombinant TaqDNA polymerase, 0.5 pM of each primer, 1  $\mu$  Ci [alpha-32P] deoxyadenosine 5'-triphosphate (Amersham, Aylesbury, UK), 100 ng of genomic DNA가 포함되어 있었다. 반응 조건은 95°C에서 30초, 55°C에서 30초, 72°C에서 30초 반응 후 72°C에서 5분간 final elongation을 시행하였다. PCR에서 이상을 보인 PCR 산물은 ABI 377 automatic DNA sequencer (Perkin-Elmer)에서 Taq dideoxy terminator cyclic sequencing kit를 이용하여 염기서열을 확인하였다.

#### 5) *BRCA1*, *BRCA2* 유전자 변이 검사

*BRCA* 유전자 변이 검사는 cDNA 샘플의 부족으로 1에는 제외하고 13예에서만 시행하였다. 실험은 (주)랩지노믹스에 의뢰하여 시행하였고 Spitzer 등(11)의 방법에 따라서 multiplex PCR과 F-CSGE (Fluorescent Conformation sensitive gel electrophoresis)를 시행하였다. PCR 산물은 *BRCA1* 유전자의 22개의 엑손과 *BRCA2* 유전자의 26개의 엑손을 중첩시킨 75개의 분절을 증폭시켰다. Heteroduplex의 생성을 위하여 시행하는 형광 PCR의 primers는 모든 엑손을 포함할 수 있고 최소한 40 bp 크기의 엑손-인트론 경계 부위를 포함할 수 있도록 220~503 bp의 길이로 제작한 것을 사용하였다.

두 유전자를 75개 분절로 만들기 위하여 4개의 quadruplex, 3개의 triplex, 3개의 duplex를 이용하여 31개의 *BRCA1* 분절을 만들고, 2개의 quadruplex, 11개의 triplex 그

리고 1개의 singlet을 이용하여 42개의 *BRCA2* 분절을 만들었으며 남은 2개의 분절은 F-CSGE를 시행하지 않고 직접 염기서열 분석을 시행하였다.

형광 PCR을 위하여 각 forward primer의 5'에 HEX (노랑), TEF (초록), 6-FAM (파랑) 등의 phosphoramidite 형광 색소로 표지하였다. PCR 내용물은 15  $\mu$ l로 1  $\mu$ l의 DNA 용액, 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.25 mM dNTP, 0.5  $\mu$ M of each primer, 1 U Taq polymerase (TaKaRa)를 포함하게 하였다. 반응은 95°C에서 10분간 변성 후 95°C에서 15초, 57°C에서 1분, 72°C에서 45초간 35회 시행하였다. Heteroduplex의 형성을 위하여 95°C에서 5분간 변성 후 68°C에서 30분간 식히고 최종적으로 4°C에서 냉각을 시행하였다. PCR 산물은 0.2 mm 두께 12% polyacrylamide gels, 99 : 1 acrylamide (BioRad, CA, USA), 1, 2 bis-acryolylpiperazine (Fluka, Switzerland), 15% formamide (v/v) in 1X TBE buffer에서 전기 영동을 시행하였다. PCR산물은 1X TBE를 이용한 ABI 377 sequencer에서 분리하였다. Loading sample은 0.3~1  $\mu$ l의 각 multiplexed PCR 산물, 0.2  $\mu$ l standard labeled TAMRA (GS500, Applied Biosystems, CA, USA), 0.5  $\mu$ l dextran blue (50 mg/ml), 0.5  $\mu$ l의 freshly deionized formamide를 함유한다. 각 lane에 1~1.8  $\mu$ l의 *BRCA1/BRCA2*와 'Sporadic Breast Cancer in Korea3' 유전자가 함유된 샘플들을 도포하였고 1X TBE에서 2,000 V, 42°C, 5시간의 조건으로 전기 영동하였다. 데이터 분석은 GeneScan and Genotyper software (Applied Biosystems, CA, USA)를 이용하였다. CSGE에서 이상 소견을 보인 PCR 산물은 별도로 제작된 sequencing primer로 재증폭하여 Megabace 500 genetic analyzer (Amersham biosciences, CA, USA)를 이용하여 염기 서열을 분석하였다.

#### 6) *E-cadherin* 유전자 변이 검사

*E-cadherin* 유전자 변이를 확인하기 위하여 PCR을 시행하였다. PCR 반응은 25  $\mu$ l로 100 ng genomic DNA, 2.5 pM of each primer, 4개의 250 uM dNTP, 0.5 units of recombinant TaqDNA polymerase, buffer (Boering Mannheim, Mannheim, Germany)가 포함되어 있고, primer는 자체 제작한 것을 사용하였다. 반응은 총 35회로 94°C에서 30초, 55~60°C에서 1분, 72°C에서 1분간 반응 후 72°C에서 10분간 최종 elongation을 시행하였다. PCR에서 이상을 보인 PCR 산물은 ABI 377 automatic DNA sequencer (Perkin-Elmer)에서 Taq dideoxy terminator cyclic sequencing kit를 이용하여 염기서열을 확인하였다.

**Table 3.** Clinicopathologic characteristics of the patients

No.	Sex	Age	IPMN		Extrapaneatic cancer	Synchronicity	Family history
			Type	Location			
1	M	53	Dysplasia	Head	AGC	O	Stomach ca: father
2	M	61	Dysplasia	Head	EGC	O	Denied
3	M	69	Dysplasia	Body, tail	Colon ca	O	Denied
4	M	59	Dysplasia	Head	EGC	X	Denied
5	M	75	Dysplasia	Head	Colon ca	X	Denied
					AoV ca	O	Denied
6	M	68	Dysplasia	Tail	Gastric GIST	O	Denied
7	M	52	Dysplasia	Tail	HCC	O	Denied
8	M	72	Dysplasia	Head	EGC	O	Denied
9	M	72	Adenoma	Head	Rectal ca	O	Stomach ca: sister
10	M	78	Carcinoma	Head	Colon ca	X	Denied
11	F	44	Dysplasia	Head	HCC	O	Denied
12	M	55	Dysplasia	Tail	EGC	O	Denied
13	M	66	Dysplasia	Body, tail	AGC	O	Denied
14	F	68	Adenoma	Body, tail	Rectal ca	X	Denied

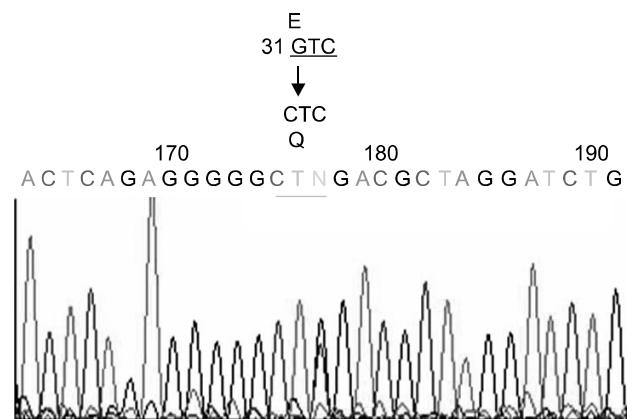
## 결 과

### 1) 대상 환자들의 임상병리학적 특성(Table 3)

14명의 환자 중 남자는 12명, 여자는 2명이었고 평균 연령은 63.7세(44~78)였다. 세계 보건 기구의 분류에 따른 최관 내 유두상 점액 종양은 선종(adenoma) 2예, 경계성 병변인 중등도 이형성 11예, 악성인 선암(carcinoma) 1예로 분류되었다. 최관 내 유두상 점액 종양과 동반되었던 비취장성 종양은 위암 6예(조기 위암 4예, 진행성 위암 2예), 대장 및 직장암 5예, 위장관 GIST (gastrointestinal stromal tumor) 1예, 간세포암 2예, 바터씨 췌대부암 1예가 있었다. 최관 내 유두상 점액 종양과 비취장성 종양이 이시성(metachronous)으로 발생한 경우는 총 4예(No. 4, 5, 10, 14)였고 나머지는 모두 수술과 동일한 시점에 발견되어 동반 절제를 시행한 환자였다. No. 5는 75세 남자로서 내원 5년 전 대장암 수술을 시행하고 경과 관찰 중 바터씨 췌대부암 및 최관 내 유두상 점액 종양이 동시에 발견된 특이한 경우였다. 14명 환자의 가계도 조사에서 유전성 질환의 가족력이 있는 경우는 없었고 악성 종양의 가족력이 있던 경우는 2예로 No. 1은 진행성 위암을 동반한 환자로 아버지가 위암인 경우였고 No. 9는 직장암이 동반된 최관 내 유두상 점액 선종(IPMA) 환자로 여동생이 위암으로 사망한 경우였다.

### 2) p53 유전자의 변이

p53 유전자의 Genomic DNA를 이용한 PCR 및 직접 염기



**Fig. 1.** The DNA sequence of exon 1 PCR product of *p53* gene of IPMN patient (M/69, moderate dysplasia) with synchronous colon cancer. Point mutation of codon 31 in exon 1.

서열 분석 결과 췌장 체미부의 중등도 이형성 소견을 보이는 최관 내 유두상 점액 종양 환자(No. 3)의 엑손 1의 31번 코돈에서 GTC (Glutamate)가 CTC (Glutamine)로 바뀐 과오 돌연변이를 확인할 수 있었다(Fig. 1). 이 환자는 악성 종양에 대한 가족력은 없었으며 비취장성 종양으로 대장암이 동반되어 좌반 결장 절제술과 최관 내 유두상 점액 종양에 대한 수술로 췌장체 절제술을 시행받은 환자였다.

### 3) MLH1 및 MSH2 유전자 변이

14명의 환자는 Genomic DNA를 이용한 PCR 및 직접 염기 서열 분석 결과 *MLH1* 및 *MSH2* 유전자의 변이는 발견되

**Table 4.** Sequence alterations detected in this study

Gene	Case No.	Exon	Sequence alteration	
<i>p53</i>	3	E1	31 G>C	E (Glu) 11 Q (Gln)
<i>CDH1</i>	14	E14	2218 C>T	P (Pro) 740 S (Ser)
<i>BRCA1</i>	1	E11-8	3232 A>G Heterozygote	E (Glu) 1,038 G (Gly)
	2	E11-6	2731 C>T Heterozygote	P (Pro) 271 L (Leu)
		E11-8	3232 A>G Heterozygote	E (Glu) 1,038 G (Gly)
		E11-9	3667 A>G Heterozygote	K (Lys) 1,183 R (Arg)
		E16	4956 A>G Heterozygote	S (Ser) 1,613 G (Gly)
	4	E11-8	3232 A>G Heterozygote	E (Glu) 1,038 G (Gly)
	5	E11-6	2731 C>T Heterozygote	P (Pro) 271 L (Leu)
		E11-8	3232 A>G Heterozygote	E (Glu) 1,038 G (Gly)
		E11-9	3667 A>G Heterozygote	K (Lys) 1,183 R (Arg)
		E16	4956 A>G Heterozygote	S (Ser) 1,613 G (Gly)
	6	E11-8	3232 A>G Heterozygote	E (Glu) 1,038 G (Gly)
	7	E11-6	2731 C>T Heterozygote	P (Pro) 271 L (Leu)
		E11-8	3232 A>G Heterozygote	E (Glu) 1,038 G (Gly)
		E11-9	3667 A>G Heterozygote	K (Lys) 1,183 R (Arg)
		E16	4956 A>G Heterozygote	S (Ser) 1,613 G (Gly)
	8	E11-8	3232 A>G Heterozygote	E (Glu) 1,038 G (Gly)
	9	E11-8	3232 A>G Heterozygote	E (Glu) 1,038 G (Gly)
	10	E11-8	3232 A>G Homozygote	E (Glu) 1,038 G (Gly)
	12	E11-6	2731 C>T Heterozygote	P (Pro) 271 L (Leu)
		E11-8	3232 A>G Heterozygote	E (Glu) 1,038 G (Gly)
		E16	4956 A>G Heterozygote	S (Ser) 1,613 G (Gly)
	13	E11-8	3232 A>G Heterozygote	E (Glu) 1,038 G (Gly)
		E16	4956 A>G Heterozygote	S (Ser) 1,613 G (Gly)
<i>BRCA2</i>	3	E10-1	1093 A>C Heterozygote	N (Asn) 289 H (His)
		E11-4	3199 A>G Heterozygote	N (Asn) 991 D (Asp)
	4	E10-1	1093 A>C Heterozygote	N (Asn) 289 H (His)
		E11-4	3199 A>G Heterozygote	N (Asn) 991 D (Asp)
	11	E10-1	1093 A>C Heterozygote	N (Asn) 289 H (His)
		E11-2	2578 A>G Heterozygote	M (Met) 784 V (Val)
	13	E10-1	1093 A>C Heterozygote	N (Asn) 289 H (His)

지 않았다.

#### 4) *BRCA1* 및 *BRCA2* 유전자 변이

*BRCA1* 유전자의 변이는 검사를 시행한 모든 환자(No. 1 ~13)에서 염기 서열의 변화가 관찰되었다(Table 4). 특이한 소견으로 *BRCA1* 유전자 변이 검사를 시행한 13명의 환자 중 11명에서 엑손 11 코돈 3232번에서 염기 변화(A>G)로 Glutamate가 Glycine로 바뀌는 과오돌연변이를 확인할 수 있었다. *BRCA2* 유전자에서는 No. 3, 4, 11, 13에서만 유전자 변이가 관찰되었는데 4예에서 모두 엑손 10의 코돈 1093번의 염기 변화(A>C)로 Asparagine이 Histidine으로 바뀐 과오 돌연 변이를 확인하였다. 중등도 이형성의 최관 내 유두상 점액 종양과 간세포암을 동반하였던 44세 여자에서

*BRCA2* 유전자의 엑손 11의 2578번 코돈에서 A>G의 염기 치환이 발견되었고 이것은 *BRCA2* 단백질의 784번째 아미노산 Methionine을 Valine으로 바꾸는 단일염기 다형성으로 판명되었다.

#### 5) *CDH-1* 유전자 변이

*CDH-1* 유전자에서는 엑손 14번 2218번 코돈에서 CCC (Proline)가 TCC (Serine)로 바뀐 과오 돌연변이를 확인할 수 있었다(Fig. 2). 이 환자는 췌체부의 0.5×0.5 cm 크기의 최관 내 유두상 점액 선종을 가진 68세 여자 환자로서 3년전 직장암으로 저위전방 절제술을 시행 받고 간전이 소견이 발견되어 간우엽 절제술을 시행하면서 최관 내 유두상 점액 종양에 대한 췌미부 절제술을 동반 시행한 환자였다. 악성

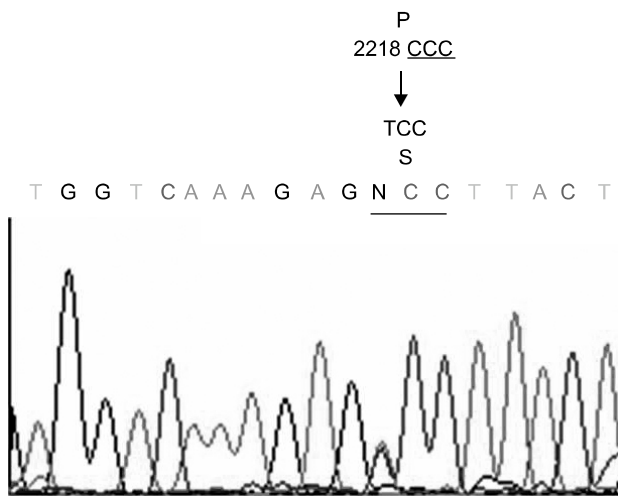


Fig. 2. The DNA sequence of exon 14 PCR product of *CDH-1* gene of IPMN patient (F/68, adenoma) with rectal cancer. Point mutation of codon 2218.

종양에 대한 가족력은 없었다.

본 연구에서 확인된 모든 유전자의 염기 서열 변화는 Table 4에 표기하였다.

## 고 찰

최관 내 유두상 점액 종양(IPMN)이 비췌장성 종양과 함께 호발하는 경우가 많다는 보고는 Sugiyama와 Atomi(2)가 처음으로 발표하였는데 42예의 최관 내 유두상 점액 종양 환자 중 48%에서 비췌장성 종양이 동반되었으며, 이 중 36%가 악성이었다고 보고하였다. 비췌장성 종양의 종류는 대장 선종 21% 및 대장암 12%로 대부분이 대장 종양이었으며, 10%에서 위암이 동반되었다고 하였다. 국내의 보고로는 Jang 등(10)이 다기관 연구를 통하여 비췌장성 종양을 동반한 최관 내 유두상 점액 종양이 5.3% (11/208명)였다고 보고하였고 Choi 등(7)은 수술을 시행한 61명의 최관 내 유두상 점액 종양 환자 중 24명(39%)에서 췌장 이외의 장기에 종양이 동반되었고 그 중 18명(29.5%)에서 악성 소견을 보여 동일한 기간 내에 수술을 시행한 췌관선암 환자나 점액 낭종 환자에 비하여 최관 내 유두상 점액 종양에서 비췌장성 종양이 더 높은 빈도로 동반되었음을 발표한 바 있다. 특히 Eguchi 등(8)은 췌관선암의 발생 연령과 성별 요인을 고려한 비교 분석 결과를 발표하여 최관 내 유두상 점액 종양 환자에서 유의하게 대장암의 발생이 더 많았음을 보고하였다. 본 연구에서는 비췌장성 종양의 동반이 많은 최

관 내 유두상 점액 종양의 발생 기전에 소화기계 암종을 포함한 다발성 종양을 일으킨다고 알려진 유전자의 배선 돌연 변이가 관련되어 있을 수 있다고 생각하였고 관련 유전자인 *p53*, *MLH1*, *MSH2*, *BRCA1*, *BRCA2*, *E-Cadherin* (*CDH-1*) 유전자에 대한 배선 돌연 변이를 검사하였다.

*p53* 유전자는 염색체 17p13.1에 위치하는 종양 억제 유전자로서 Malkin 등(12)에 의해서 Li-Fraumeni 증후군의 발생 원인으로 보고되었다. Li-Fraumeni 증후군은 희귀한 유전성 종양으로 전 세계적으로 약 400 가족이 보고되고 있으며 연부 조직 육종, 유방암, 백혈병, 골육종, 악성흑색종, 대장암, 췌장암, 부신피질, 뇌종양 등 다발성 종양이 발생하는 유전성 질병으로 상염색체 양성 유전을 하는 것으로 알려져 있다. 국내에서는 Bang 등(13)에 의하여 처음으로 기술된 바 있다. *p53* 염기서열 분석 패널을 이용하면 검출될 수 있는 *TP53*의 변이를 가진 약 70%의 Li-Fraumeni 증후군 가족에서 엑손 4와 엑손 9 사이에서 변이의 95%가 발견된다고 보고된다. 약 20%에서는 이 부위 이외에서 발생한다고 한다. *p53* 유전자의 체세포 돌연변이는 약 50% 정도의 인간의 종양에서 나타나는 가장 빈번한 유전적 변이지만 이 변이와 연관된 유전적인 표현형은 알려진 바가 없다. *p53* 유전자의 변이는 배선 돌연 변이뿐만 아니라 체세포 돌연변이에서도 대부분 과오 돌연 변이의 형태로 나타난다. Sessa 등(14)은 최관 내 유두상 점액 종양의 세포 변이에 대한 연구에서 *p53*이 선종부터 암종에 이르는 최관 내 유두상 점액 종양의 발달과정에서 가장 흔히 발견되는 변이로서 최관 내 유두상 점액 종양의 발생 초기부터 관여함을 알 수 있고 이형성이 진행될수록 더욱 많은 변이가 관찰되어 악성화에 관여함을 보고하였다. Li-Fraumeni 증후군과 관련된 췌장암에 대한 분자생물학적 보고는 Casey 등(15)이 24명의 췌장암 환자 중 8명에서 35번 코돈에서 G>T 염기 치환에 의하여 TTG (Leucine)가 TTT (Phenylalanine)로 아미노산 조성이 바뀌는 변이를 보고하였다. 본 연구에서는 대장암을 동반한 중등도 이형성의 최관 내 유두상 점액 종양이 있는 69세의 남자 환자에서 엑손 1의 31번 코돈에서 G>C 염기 치환에 의하여 Glutamate가 Glutamine으로 바뀐 변이를 확인하였다. IARC (International Agency for Research on Cancer) *TP53* 돌연 변이 데이터 베이스(<http://www-p53.iarc.fr/index.html>)의 검색 결과에 의하면 이 변이는 현재까지 질병을 유발하는 병적 변이나 다형성으로도 보고된 바가 없는 변이이다. 이는 최관 내 유두상 점액 종양이 *p53* 유전자에 의하여 발생할 수 있는 다발성 종양의 하나의 표현형일 가능성을 시



사한다.

*BRCA* 유전자는 염색체 구조를 보존하는 데 필수적이며 또한 암 억제 유전자의 역할을 한다고 생각된다. *BRCA1*과 *BRCA2* 유전자의 돌연변이와 관련된 암발생 위험도는 아직 제대로 알려져 있지 않고 같은 변이를 가진 유사한 인종적 배경을 가진 가족 내에서도 다양하게 나타난다. 여성에서 *BRCA1*과 *BRCA2* 유전자에 의하여 발생할 수 있는 암으로 유방암, 난소암이 알려져 있는 반면 남성에서의 암발생 위험군으로 전립선암, 대장암, 췌장암, 위암이 알려져 있다.(16) 대장암의 경우 유태인 대장암 환자 225명을 대상으로 한 연구 결과에서 약 2%에서 두 유전자의 배선 돌연변이를 관찰할 수 있었는데 이는 아스케나지 유태인에서 일반적으로 관찰되는 2.5%의 시조 돌연변이와 비교할 때 더 높지 않은 빈도이다. 그러나 최근 들어 *BRCA* 유전자 양성 가족을 대상으로 한 연구나 Breast Cancer Linkage Consortium (BCLC)(17)의 보고에 따르면 *BRCA1* 유전자에서 대장암 발생률이 2배로 보고되었다. 반면 *BRCA2*에서는 대장암의 발생률의 증가는 없는 것으로 보고되고 있다. 췌장암은 *BRCA2* 유전자 돌연변이의 확립된 표현형이지만 *BRCA1* 변이와 췌장암 발생과는 연관성이 없는 것으로 보고된다.(18) Berman 등(19)은 *BRCA2* 유전자의 6174delT 돌연변이가 대장암, 식도암, 췌장암, 위암 및 혈액암의 발생률을 증가시킨다고 보고하였고 가족성 췌장암 환자와의 연관성도 보고되었다.(20) 아스케나지 유태인에서 비대장성 소화기계 암종 중 위암과 췌장암에서 *BRCA2* 유전자의 변이가 의미 있게 많이 발현된다는 보고도 있다.(21) BCLC(17)의 보고에서는 *BRCA2* 양성가족에서 위암의 발생률이 상대적으로 높다고 발표하였다(RR, 2.6; 95% CI, 1.5~4.6). *BRCA1* 유전자 돌연변이 보인자(carrier) 남성의 위암 발생 평생 위험도는 5.5%로 보고되고 있다.(22) 우리나라에서는 *BRCA* 유전자와 관련된 유방암 이외의 암 발생빈도는 현재까지 보고된 바 없다.

본 연구에서 *BRCA* 유전자의 염기 서열 분석 결과는 아미노산의 조성이 바뀌는 변이가 있었지만 단백질의 기능을 변화시키지 않는 단일염기 다형성으로 보고되는 경우가 대부분이었다. 본 연구의 13명의 대상 환자 중 11명에서 *BRCA1* 유전자의 엑손 11의 3232번 코돈에서 A>G 염기 치환으로 E (Glutamate)가 G (Glycine)로 변환된 변이가 확인된 사실은 흥미롭다. E1038G 변이는 국내 유전성 유방암 환자에서 대립인자빈도(allele frequency)가 30.3%로 보고되는 단일염기 다형성이다.(23) 11예의 단일염기 다형성 중 10예는 이형접합체(heterozygote)였고 1예는 동형접합체(homozy-

gote)로서 본 연구에서의 단일염기 다형성의 대립인자빈도는 46.1% [(heterozygote  $1/2 \times (10 \times 2) + \text{homozygote } 2/2 \times (1 \times 2)) / (13 \times 2)]$ 로 유방암 환자의 대립인자빈도인 30.3%에 비하여 높은 빈도로 단일염기 다형성이 확인되었다. 정상인에서의 단일염기 다형성의 대립인자빈도가 알려져 있지 않고 두 군을 비교하기에는 대상군의 크기가 작기 때문에 두 수치 간의 통계적인 유의성을 찾기는 어렵지만 우연으로 생각하기에는 큰 빈도차로서 최관 내 유두상 점액 종양의 발생과의 관련성을 생각해 볼 수는 있겠다. 그러나 *BRCA* 유전자의 크기가 매우 크고 다양한 단일염기 다형성이 보고되고 있기 때문에 13명만의 환자를 대상으로 단일염기 다형성의 의미를 찾기는 힘들 것으로 보인다. 정상인에 대한 대립인자빈도와 보다 많은 증례에 대한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

*BRCA2* 유전자에서는 No. 3, 4, 11, 13에서만 유전자 변이가 관찰되었는데 4예에서 모두 엑손 10의 코돈 1093번의 염기 변화(A>C)로 Asparagine이 Histidine으로 바뀐 변이를 관찰할 수 있었다. 이는 대립인자빈도 3.4%로 보고되는 단일 염기 다형성으로서 유방암에 대한 감수성(susceptibility)을 증가시키지 않는 다형성으로 알려져 있다.(24) 소화기계 암종과 관련된 보고는 현재까지 없다. *BRCA2* 유전자의 엑손 11의 코돈 2578번에서 발견된 A>G의 염기 치환은 *BRCA2* 단백질의 784번 아미노산 Methionine을 Valine으로 바꾸는 단일 염기 다형성으로 판명되었고 현재 주로 아시아인을 대상으로 한 수십 건의 구미 연구에서 보고된 바 있으나, 대립인자빈도는 보고된 바 없고 Breast Cancer Information Core (BIC)의 보고에 따르면 한국인 유방암 환자를 대상으로 한 연구 결과, 한국인의 대립인자빈도는 2.6%로 추정된다. 아미노산 조성이 바뀌므로 질병연관성이 있을 가능성이 있지만, 아직까지 진행된 기능적 연구는 없는 실정이다. 정상 대조군과의 비교 연구결과도 현재까지 보고된 바 없다.

일명 *CDH-1*이라고 명명되는 인간의 *E-Cadherin* 유전자는 상피세포에 의하여 발현되는 주 cadherin 분자로서 *E-Cadherin*의 구조적 변형, 발현 소실은 세포간 부착을 파괴하여 미만형 위암, 간세포암, 유방암 등 다양한 인간의 악성 종양에서 고종양등급(high tumor grade), 침습성 성장, 림프절 전이를 유발한다. *E-Cadherin*은 유전성 미만성 위암(Hereditary diffuse gastric cancer, HDGC) 가족의 50% 정도에서 관련되어 있는 것으로 보고되고 있는데 산발성(sporadic) 위암이나 유전성 장형(intestinal type) 위암에는 관련성이 없



는 것으로 알려져 있다.(25) *E-Cadherin*의 배선 돌연변이는 서구와 아시아 지역이 다른 것으로 보고되고 있는데 서구 지역은 변이의 빈도가 높고 절단(truncating) 배선 돌연변이가 많이 관찰되는 반면 아시아 국가에서는 몇몇 개의 상이한 과오 돌연변이만이 보고되고 있다.

정상 *E-Cadherin* 대립유전자는 Berx 등(26)에 의하여 처음 클로닝되었다. 병적인 대립유전자는 현재까지 유전성 미만형 위암 가족에서 36개의 배선 돌연변이가 보고되었는데 대부분 구조이상돌연변이(frameshift mutation), 스플라이스 자리 돌연변이(splice site mutation), 점 돌연변이(point mutation)를 통한 절단 돌연변이였다. 열점(hot-spot)은 보고된 바 없고 유전자 전번에 걸쳐서 발생하는 것으로 알려져 있다. Brooks-Wilson 등(27)은 조직학적으로 증명된 대장의 반지 세포암종(signet ring cell cancer)에서 *E-Cadherin* 유전자의 과오돌연변이가 있음을 보고하였다. 우리나라에서는 Yoon 등(28)이 가족성 위암 5가구에서 2예의 *E-cadherin* 유전자의 배선 돌연 변이를 보고한 바 있다(Exon 6 codon 244 GAT>GGT, Exon 10 codon 487 GTG>GCG). *E-Cadherin* 단백질을 암호화하는 *E-cadherin* 유전자는 전사 개시부위로부터 -347, -163, -160 위치의 촉발 부위(promoter region)에 각각 G→GA, T→△T, C→A의 다형성이 존재함이 알려져 있다. Li 등(29)은 *E-Cadherin* 유전자의 촉진자(promoter)의 전사 개시 부위(transcriptional start site)로부터 -160의 위치에 A 대립유전자가 존재하는 경우 C 대립유전자가 존재하는 경우보다 전사 효율이 68%로 낮아지는 것을 확인하였고 C 대립유전자가 더욱 강력한 전사 인자 결합력(transcriptional factor binding strength)을 가지는 것을 확인하였다. 이러한 결과로서 -160 C/A 다형성이 *E-Cadherin* 유전자의 전사 조절에 직접적인 영향을 주는 것을 알 수 있다. 이러한 A 대립유전자 변이는 위암 발생의 고위험군을 감별할 수 있는 유용한 유전자 지표로 여겨진다. 일본의 위암 연구에서도 *E-cadherin* 유전자의 촉진자에서 단일염기 다형성의 유전자형(genotype)에 따라서 위암의 분화도, 침습도 및 림프절 전이에서 유의한 차이를 보인다고 보고하였으나 Park 등(30)은 한국인의 위암을 대상으로 시행한 실험에서는 -160 C/A 다형성은 일반인의 그것과 차이를 보이지 않았기에 한국인의 위암 발생과는 관련성이 적을 것으로 보고하였고 유전자 지표로서의 의미도 없는 것으로 보고하였다. 본 연구에서 확인된 유전자 변이는 직장암이 동반된 68세 여자 최관 내 유두상 점액 선종 환자로서 엑손 14의 코돈 2218의 CCC>TCC 염기 치환으로 Proline이 Serine으로 변환된 과오 돌연

변이였다. 아미노산 조성이 바뀌므로 질병과의 연관성이 있을 것으로 생각되지만 아직까지 이와 관련된 기능적 연구는 보고되고 있지 않다.

## 결 론

저자들은 비취장성 소화기계 암이 동반된 최관 내 유두상 점액 종양 환자에서 *p53*, *MLH1*, *MSH2*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CDH-1* 유전자의 배선 돌연 변이에 대한 연구를 통하여 *p53* 유전자 변이(Exon1 31 G>C→E11Q) 및 *CDH-1* 유전자 변이(Exon14 2218 C>T→P740S)를 확인하였고 이는 현재까지 보고되지 않은 새로운 변이로서 최관 내 유두상 점액 종양이 이들 유전자의 변이에 의해서 발생되는 다발성 종양의 하나의 표현형일 가능성이 있음을 시사한다. 비록 적은 수의 증례이지만 최관 내 유두상 점액 종양 환자의 배선 돌연 변이에 대한 연구가 거의 전무한 실정에서 시도된 본 연구 결과는 최관 내 유두상 점액 종양이 지니는 유전학적 특성을 밝히는데 중요한 역할을 할 것으로 기대한다.

## REFERENCES

- 1) Jiang ZL, Satoh K, Moriizumi S, Shimosegawa T, Koizumi M, Toyota T. An analysis of the diseases associated with mucin-producing tumors of the pancreas. J Jpn Panc Soc 1996; 11:289-92.
- 2) Sugiyama M, Atomi Y. Extrapaneatic neoplasms occur with unusual frequency in patients with intraductal papillary mucinous tumors of the pancreas. Am J Gastroenterol 1999;94: 470-3.
- 3) Yamaguchi K, Yokohata K, Noshiro H, Chijiwa K, Tanaka M. Mucinous cystic neoplasm of the pancreas or intraductal papillary-mucinous tumour of the pancreas. Eur J Surg 2000;166:141-8.
- 4) Suzuki Y, Atomi Y, Sugiyama M, Isaji S, Inui K, Kimura W, et al. Cystic neoplasm of the pancreas: a Japanese multiinstitutional study of intraductal papillary mucinous tumor and mucinous cystic tumor. Pancreas 2004;28:241-6.
- 5) Jang JY, Kim SW, Ahn YJ, Yoon YS, Choi MG, Lee KU, et al. Multicenter analysis of clinicopathologic features of intraductal papillary mucinous tumor of the pancreas: is it possible to predict the malignancy before surgery? Ann Surg Oncol 2005;12:124-32.
- 6) Kamisawa T, Tu Y, Egawa N, Nakajima H, Tsuruta K, Okamoto A. Malignancies associated with intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas. World J Gastroenterol 2005;11:5688-90.
- 7) Choi MG, Kim SW, Han SS, Jang JY, Park YH. High in-

- cidence of extrapancreatic neoplasms in patients with intraductal papillary mucinous neoplasms. *Arch Surg* 2006;141:51-6.
- 8) Eguchi H, Ishikawa O, Ohigashi H, Tomimaru Y, Sasaki Y, Yamada T, et al. Patients with pancreatic intraductal papillary mucinous neoplasms are at high risk of colorectal cancer development. *Surgery* 2006;139:749-54.
  - 9) Seo WT, Lee SJ, Chung JP, Park YN, Yoon DS, Song JW, et al. A case of intraductal papillary mucinous tumor of the pancreas accompanied by gastric cancer. *Korean J Gastrointest Endosc* 2000;21:877-81.
  - 10) Jang JY, Kim SW, Ahn YJ, Yoon YS, Lee KU, Lee YJ, et al. Analysis of clinical features and factors predictive of malignancy in intraductal papillary mucinous tumor of the pancreas: multi-center analysis in Korea. *Korean J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2003;7:1-11.
  - 11) Spitzer E, Abbaszadegan MR, Schmidt F, Hauser A, Buwitt U, Lauter FR, et al. Detection of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast cancer families by a comprehensive two-stage screening procedure. *Int J Cancer* 2000;85:474-81.
  - 12) Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF Jr, Nelson CE, Kim DH, et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science* 1990;250:1233-8.
  - 13) Bang YJ, Kang SH, Kim TY, Jung CW, Oh SM, Choe KJ, et al. The first documentation of Li-Fraumeni syndrome in Korea. *J Korean Med Sci* 1995;10:205-10.
  - 14) Sessa F, Solcia E, Capella C, Bonato M, Scarpa A, Zamboni G, et al. Intraductal papillary-mucinous tumours represent a distinct group of pancreatic neoplasms: an investigation of tumour cell differentiation and K-ras, p53 and c-erbB-2 abnormalities in 26 patients. *Virchows Arch* 1994;425:357-67.
  - 15) Casey G, Yamanaka Y, Friess H, Kobrin MS, Lopez ME, Buchler M, et al. p53 mutations are common in pancreatic cancer and are absent in chronic pancreatitis. *Cancer Lett* 1993;69:151-60.
  - 16) Liede A, Karlan BY, Narod SA. Cancer risks for male carriers of germline mutations in BRCA1 or BRCA2: a review of the literature. *J Clin Oncol* 2004;22:735-42.
  - 17) The Breast Cancer Linkage Consortium. Cancer risks in BRCA2 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:1310-6.
  - 18) Thompson D, Easton DF. Cancer Incidence in BRCA1 mutation carriers. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1358-65.
  - 19) Berman DB, Costalas J, Schultz DC, Grana G, Daly M, Godwin AK. A common mutation in BRCA2 that predisposes to a variety of cancers is found in both Jewish Ashkenazi and non-Jewish individuals. *Cancer Res* 1996;56:3409-14.
  - 20) Hahn SA, Greenhalf B, Ellis I, Sina-Frey M, Rieder H, Korte B, et al. BRCA2 germline mutations in familial pancreatic carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:214-21.
  - 21) Figer A, Irmin L, Geva R, Flex D, Sulkes J, Sulkes A, et al. The rate of the 6174delT founder Jewish mutation in BRCA2 in patients with non-colonic gastrointestinal tract tumours in Israel. *Br J Cancer* 2001;84:478-81.
  - 22) Brose MS, Rebbeck TR, Calzone KA, Stopfer JE, Nathanson KL, Weber BL. Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers identified in a risk evaluation program. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1365-72.
  - 23) Seo JH, Cho DY, Ahn SH, Yoon KS, Kang CS, Cho HM, et al. BRCA1 and BRCA2 germline mutations in Korean patients with sporadic breast cancer. *Hum Mutat* 2004;24:350.
  - 24) Sigurdson AJ, Hauptmann M, Chatterjee N, Alexander BH, Doody MM, Rutter JL, et al. Kin-cohort estimates for familial breast cancer risk in relation to variants in DNA base excision repair, BRCA1 interacting and growth factor genes. *BMC Cancer* 2004;4:9.
  - 25) Caldas C, Carneiro F, Lynch HT, Yokota J, Wiesner GL, Powell SM, et al. Familial gastric cancer: overview and guidelines for management. *J Med Genet* 1999;36:873-80.
  - 26) Berx G, Staes K, van Hengel J, Molemans F, Bussemakers MJ, van Bokhoven A, et al. Cloning and characterization of the human invasion suppressor gene E-cadherin (CDH1). *Genomics* 1995;26:281-9.
  - 27) Brooks-Wilson AR, Kaurah P, Suriano G, Leach S, Senz J, Grehan N, et al. Germline E-cadherin mutations in hereditary diffuse gastric cancer: assessment of 42 new families and review of genetic screening criteria. *J Med Genet* 2004;41:508-17.
  - 28) Yoon KA, Ku JL, Yang HK, Kim WH, Park SY, Park JG. Germline mutations of E-cadherin gene in Korean familial gastric cancer patients. *J Hum Genet* 1999;44:177-80.
  - 29) Li LC, Chui RM, Sasaki M, Nakajima K, Perinchery G, Au HC, et al. A single nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter alters transcriptional activities. *Cancer Res* 2000;60:873-6.
  - 30) Park WS, Cho YG, Park JY, Kim CJ, Lee JH, Kim HS, et al. A single nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter-160 is not associated with risk of Korean gastric cancer. *J Korean Med Sci* 2003;18:501-4.