

원발성 소세포폐암에서 염색체 16번의 단완에 위치한 종양억제유전자좌의 확인[†]

연세대학교 의과대학 내과학교실¹, BK21 의학과학사업단², 병리학교실³,
흉부외과학교실⁴, 폐질환연구소⁵, 암전이연구센터⁶, 인하대학교 의과대학 내과학교실⁷

기현정², 신주혜⁶, 장 준^{1,5}, 정경영^{4,5}, 신동환^{3,5},
김영삼^{1,5}, 장윤수^{1,5}, 김성규^{1,5}, 박승민⁷, 김세규^{1,2,5,6*}

=Abstract=

Identification of Tumor Suppressor Loci on the Short Arm of Chromosome 16 in Primary Small Cell Lung Cancers

Hyun Jung Kee², Ju Hye Shin⁶, Joon Chang, M.D.^{1,5}, Kyung Young Chung, M.D.^{4,5},
Dong Hwan Shin, M.D.^{3,5}, Young Sam Kim, M.D.^{1,5}, Yoon Soo Chang, M.D.^{1,5},
Sung Kyu Kim, M.D.^{1,5}, Seung Min Kwak⁷, M.D., Se Kyu Kim, M.D.^{1,2,5,6*}

*Department of Internal Medicine¹, Brain Korea 21 Project for Medical Sciences², Pathology³,
Cardiovascular and Thoracic Surgery⁴, The Institute of Chest Diseases⁵, and Cancer Metastasis Research Center⁶,
Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea
Department of Internal Medicine⁷, Pulmonary Division, Inha University Hospital, 7-206, 3-ga,
Shinheung-dong, Jung-gu, Incheon 400-103, Korea*

Background : Loss of the short arm of chromosome 16 is a frequent event in various cancers, which suggests the presence of tumor suppressor gene(s) there. To map precise tumor suppressor loci on the chromosome arm for further positional cloning efforts, we tested 23 primary small cell lung cancers.

Methods : The DNAs extracted from paraffin embedded tissue blocks with primary tumor and corresponding control tissue were investigated. Twenty polymorphic microsatellite markers located in the short arm of chromosome 16 were used in the microsatellite analysis.

Results : We found that six (26.1%) of 23 tumors exhibited LOH in at least one of tested microsatellite markers. Two (8.7%) of 6 tumors exhibiting LOH lost a larger area in chromosome 16p. LOH was observed in five common deleted regions at 16p. Among those areas, LOH between *D16S668* and *D16S749* was most frequent (21.1%). LOH was also observed at four other regions, between *D16S3024* and *D16S748*, *D16S405*, *D16S420*, and *D16S753*. Six of 23 tumors exhibited shifted bands in at least one

[†]본 연구는 2000학년도 연세대학교 의과대학 일반교수연구비 지원에 의해 이루어졌음.

Address for correspondence :

Se Kyu Kim, M.D.

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine

CPO BOX 8044, Seoul, Korea.

Phone : 82-2-361-5429 Fax : 82-2-393-6884 E-mail: sekyukim@yumc.yonsei.ac.kr

of the tested microsatellite markers. Shifted bands occurred in 3.3% (15 of 460) of the loci tested.

Conclusion : Our data demonstrated that at least five tumor suppressor loci might exist in the short arm of chromosome 16 and that they may play an important role in small cell lung cancer tumorigenesis. (*Tuberculosis and Respiratory Diseases* 2003, 55:597-611)

Key words : Small cell lung cancer, Chromosome 16, LOH, Tumor suppressor.

서 론

폐암은 전세계적으로 증가 추세에 있으며, 우리나라에서도 흡연 인구의 증가와 대기 오염 등의 영향에 의해 최근 급격히 증가하고 있다. 보건복지부가 발표한 2000년도 중앙암등록 현황¹에 따르면 2000년 한해 동안 새로 진단된 암은 전년에 비해 1.9% 증가하였으며, 폐암은 위암 다음으로 발생 빈도가 높았다. 1984년 이후 추이를 보면 위암, 자궁경부암은 감소하고 있으나 대장암, 유방암, 폐암, 간암 등은 증가하는 것으로 나타나 한국인의 암 발생 유형이 선진국을 닮아가고 있는 것으로 생각된다.

폐암의 문제점은 진단 당시 55%이상에서 이미 원격 전이가 있으며, 전체적으로는 5년 생존율이 14%에 불과할 정도로 폐암의 예후는 매우 불량하다. 이러한 결과는 1960년대에 8%이던 생존율이 수술과 방사선 요법, 항암화학요법 등의 복합 치료에 의해 향상된 것임에도 불구하고 아직 만족할 만한 수준에 도달하지 못하고 있으므로 치료 성적을 높이기 위해서 폐암 연구에 대한 다양한 노력이 절실히 요구되고 있다².

사람에서 발생하는 암은 유전체 변성의 축적에 의한 다단계 과정에 의해 발생하여 다른 장기로 전이된다고 생각되지만 아직도 이러한 변화에 대한 분자생물학적 원인에 대해서는 잘 밝혀져 있지 않은 부분이 많기 때문에 특히 폐암 발생 및 전이에 관여하는 특이 유전자를 찾아내는 것이 근본적으로 매우 중요하다.

폐암의 조직학적 분류 중 소세포폐암은 약 20%

정도를 차지하며, 진단 초기에 이미 원격 전이가 발생하였거나 치료 경과 중 높은 재발율 때문에 예후가 매우 불량하다. 최근의 세포유전학적 연구에 따르면 소세포폐암에서 염색체 3p, 4q, 5q, 10q, 13q와 17p 에서 loss of heterozygosity(LOH)가 빈번하게 발생하는 것이 관찰되는데 이러한 빈번한 결손은 이들 부위에 소세포폐암 관련 종양억제유전자가 존재함을 시사한다. 이와 관련하여 최근 김 등은 소세포폐암을 대상으로 염색체 9번의 단완, 염색체 10번의 장완, 염색체 5번의 장완, 염색체 4번의 장완, 그리고 염색체 15번의 장완에서 종양억제유전자좌의 존재 가능성을 제시한바 있다³⁻⁷.

이렇게 다양한 유전자 변이와 함께 소세포폐암의 암 발생 및 진행에 관여하는 또 다른 중요한 원인을 밝히기 위한 노력의 일환으로 간암⁸, 고환배세포종(testicular germ cell tumor)⁹, 유방암¹⁰, 갑상선암¹¹, 췌장 내분비종양(pancreatic endocrine tumors)¹² 등에서 빈번히 발견되는 16p 돌연변이가 소세포폐암에서는 어떤 양상을 보이는지 알아보기 위해 저자들은 우리나라 소세포폐암 환자들을 대상으로 염색체 16번의 단완에서 종양억제유전자좌를 찾고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

연세대학교 의과대학 세브란스병원에서 굴곡성 기관지내시경검사 혹은 세침흡인생검의 통상적인 조

직검사로 확진되지 않아 폐암의 진단 및 치료를 위해 수술을 시행한 결과 소세포폐암으로 진단된 23예를 대상으로 하였다. 대상 환자는 모두 남자였으며, 평균 연령은 61.3세(30~77세)이었고, 흡연자는 20명, 흡연력은 평균 22.5 갑-년이었다. 대상 환자들의 중앙 생존 기간은 40주(21~285주)이었다. 환자의 병기는 진행성 병기 1 예를 제외하고, 나머지 모두 제한성 병기이었다.

DNA 추출을 위해 소세포폐암 조직과 이에 대응하는 동일한 환자에서의 정상 조직 파라핀 포맷 블록들을 이용하였다. 암 조직 블록은 microtome을 이용하여 4 μ m로 절편 한 후, hematoxylin과 eosin 염색을 하여 병리 의사에 의해 소세포폐암임을 재차 확인하고, 중앙 부위를 확인하였다. 이후 4~5개의 10 μ m 추가 절편을 만든 다음 저배율 현미경 하에서 scalpel을 이용하여 정상 세포의 오염이 30% 이하로 가능한 적도록 주의하면서 중앙 조직을 박리하였다. 정상 조직도 동일한 방법으로 준비하였다.

2. 방 법

박리한 조직은 1% SDS proteinase K를 포함하는 50 mM Tris-HCl (pH 8.0) 200 μ l에 넣어 42°C에서 12~24시간 incubation 하여 용해 시켰다. 용해시킨 검체는 phenol chloroform으로 정제하고, ethanol precipitation 방법을 이용하여 DNA를 추출하였다.

표지자를 이용한 PCR-LOH 분석을 위하여 이용한 염색체 16번 단완에 위치하는 20개의 다형성 현미부수체 표지자들(microsatellite markers)은 Research Genetics (Huntsville, AL, USA)로부터 구입하였다. ; *D16S3024*, *D16S423*, *D16S513*, *D16S406*, *D16S3020*, *D16S519*, *D16S748*, *D16S3114*, *D16S3069*, *D16S405*, *D16S764*, *D16S668*, *D16S3041*, *D16S749*, *D16S403*, *D16S420*, *D16S401*,

D16S3068, *D16S3093*, *D16S753*.

각각의 primer들 중 하나는 [γ -³²P]ATP (3,000Ci/mmol; Amersham Life Science, Buckinghamshire, England)와 T₄ DNA polynucleotide kinase (New England Biolabs, Beverly, MA)를 이용하여 end labeling 하였다. 중합효소 연쇄반응은 500 μ l plastic tubes에 총 12.5 μ l가 되도록 20ng genomic DNA, 1% dimethylsulfoxide, 200mM dNTP, 1.5mM MgCl₂, 0.1mM [γ -³²P]ATP를 포함한 0.4mM PCR primers, 0.5 units Taq DNA polymerase (GIBCO BRL, Gaithersburg, MD, USA)를 첨가하였다. 이를 temperature cycler(Hyaid; Omnigene, Woodbridge, NJ, USA)를 이용하여 95°C에서 30초간 변성, 52~60°C에서 60초 동안 재결합, 그리고 70°C에서 60초 동안 신장하는 과정을 35회 증폭한 다음 70°C에서 5분 동안 신장시켰다. 중합효소연쇄반응 산물은 6% polyacrylamide urea formamide gel에서 전기영동으로 분리시키고, autoradiography를 시행하였다.

실험 결과는 소세포폐암에서 대립 형질 2개중 1개의 신호 강도가 정상 대조군과 비교하여 50% 이상 감소하면 LOH로 정의하였다. 또한 정상 대조군에서 관찰되지 않는 새로운 대립형질이 관찰되는 경우 shifted band로 정의하였다.

결 과

- 1) 23예 중에서 LOH가 1개라도 관찰된 경우는 6예로 26.1%이었다(Fig. 1).
- 2) LOH가 있는 6예 중에서 비교적 넓은 부위의 결손이 관찰된 경우는 2예(SCLC1, SCLC2)로써 전체의 8.7%이었다(Fig. 1).
- 3) 검사를 시행한 20개의 표지자들 중 50% 이상의 LOH 빈도를 보인 경우는 없었으나 다른 부위와 비교하여 우월하게 빈번한 빈도를 보인 부위는 *D16S3024*와 *D16S748* 사이에서 18.2%,

Table 1. LOH on 16p in small cell lung cancer

Regions	Tumors LOH/informative	Percentage
<i>D16S3024</i> ↔ <i>D16S748</i>	4/22	18.2%
<i>D16S405</i>	1/7	14.3%
<i>D16S668</i> ↔ <i>D16S749</i>	4/19	21.1%
<i>D16S420</i>	1/12	8.3%
<i>D16S753</i>	1/12	8.3%
Total	6/23	26.1%

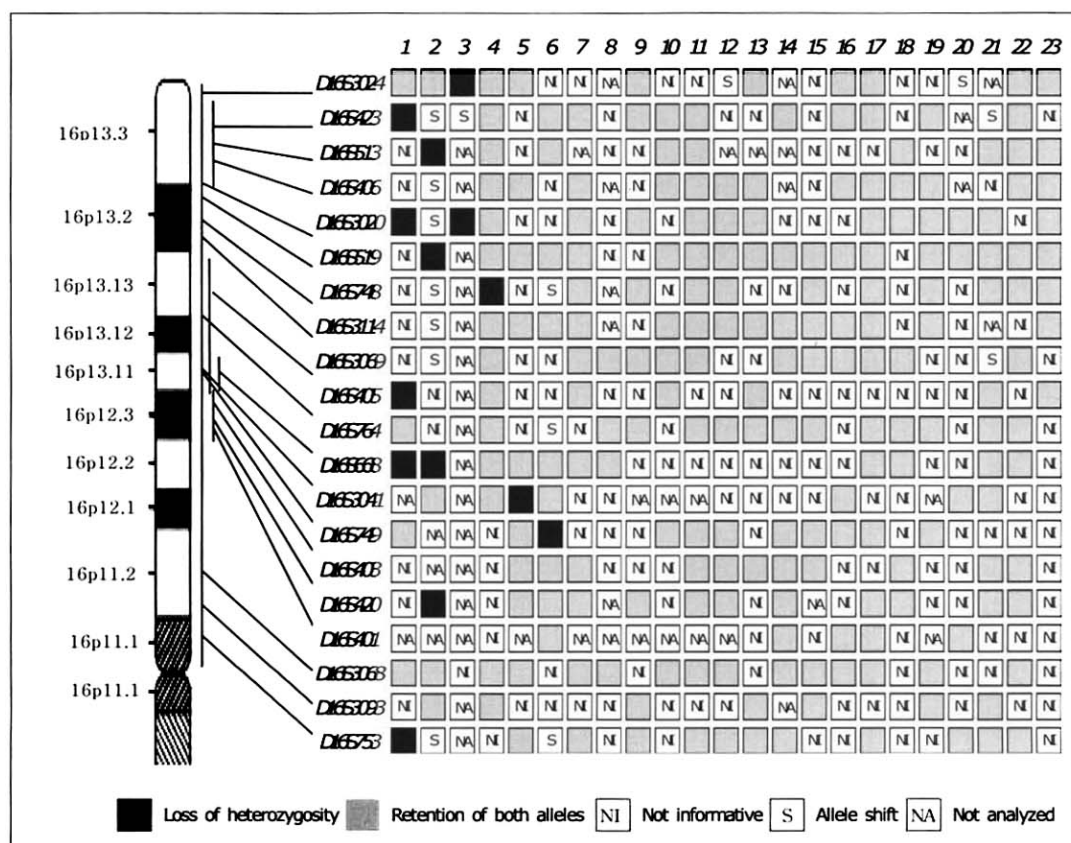


Fig. 1. Deletion mapping at chromosome 16p in primary small cell lung cancers. Names of microsatellite markers are at left side of the figure and tumors are given on the top of the figure. A total 6 (26.1%) tumors exhibited LOH at more than one region on chromosome 16p.

*D16S405*에서 14.3%, *D16S668*과 *D16S749* 사이에서 21.1%, 그리고 *D16S420*과 *D16S753*에서 각각 8.3%의 빈도로 관찰되었다(Table 1, Fig. 1,

Fig. 2).

4) Shifted bands는 23예 중 6예에서 관찰되었는데 altered loci의 빈도는 5~35% 이었다(Fig. 1,

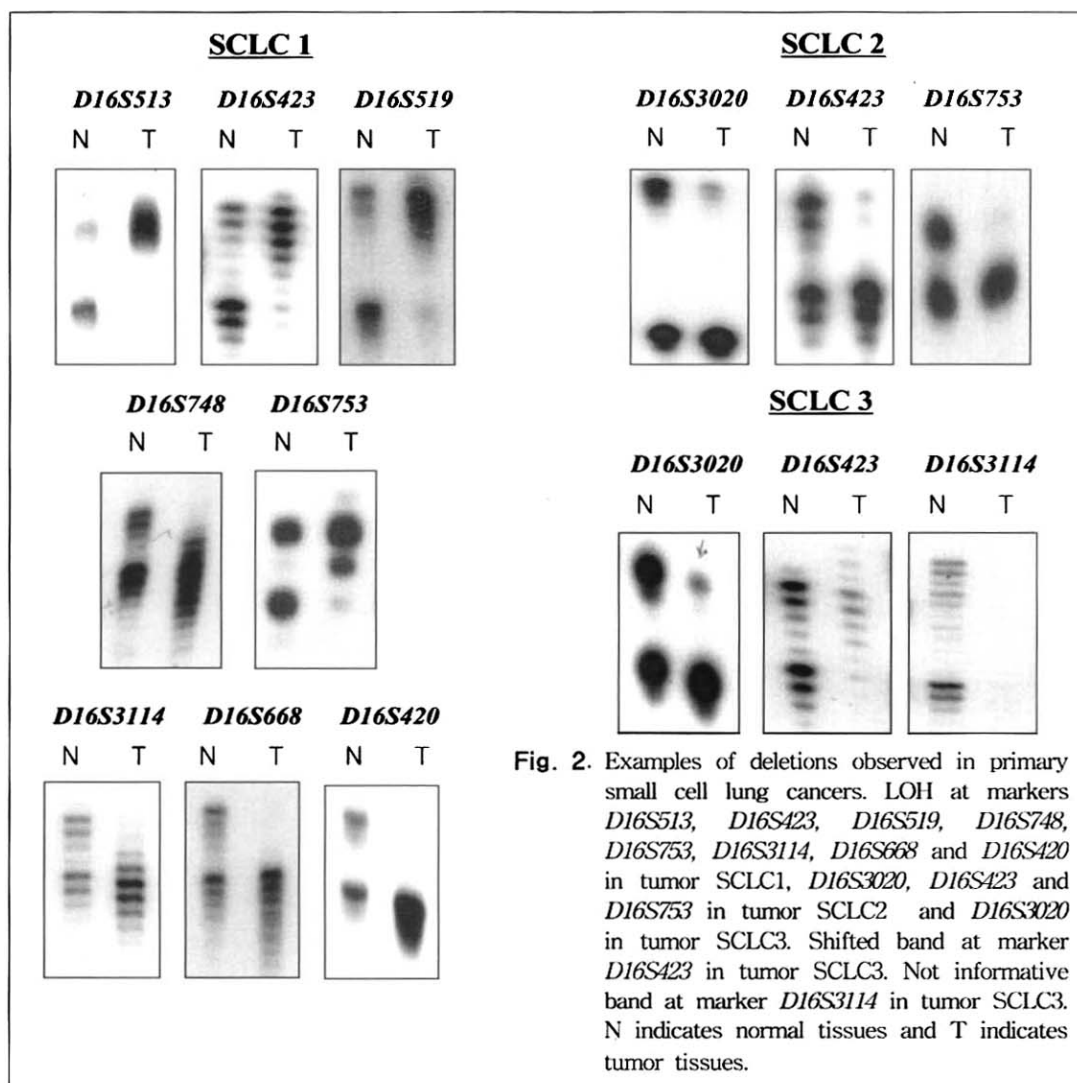


Fig. 2).

- 5) Shifted bands는 검사한 총 460개 loci중 3.3%인 15 loci에서 관찰되었다(Fig. 1).

고 찰

소세포폐암은 치료에도 불구하고 원격 전이와 재발을 잘하기 때문에 예후가 매우 불량하며, 유전학

적 변화의 기전 또한 매우 복잡하여 세포유전학적 연구에 의하면 다양한 염색체상에서 대립형질의 결손이 높은 빈도로 빈번하게 관찰되는데 이는 다양한 성장억제 경로를 통하여 소세포폐암의 공격적인 표현형이 나타난다는 것을 의미한다.

23예의 원발성 소세포폐암을 대상으로 한 본 연구 결과 염색체 16번의 단완에서 50% 이상으로 높은 LOH 빈도를 보인 경우는 없었으나 다른 부

위와 비교하여 LOH 빈도가 우월한 5군데의 영역이 확인되었다. 첫째는 16p13.3에 위치하는 *DI6-S3024*와 16p13.1에 위치하는 *DI6S748* 사이, 둘째는 16p13.1에 위치하는 *DI6S405*, 셋째는 16p13.11에 위치하는 *DI6S668*과 16p13에 위치하는 *DI6-S749* 사이, 넷째는 16p12.3에 위치하는 *DI6S420*, 다섯째는 16p11.1-16q11.1의 중심질주위(pericentromeric)에 위치하는 *DI6S753*이다(Table 1, Fig. 1, Fig. 2). 이러한 결과는 염색체 16번의 단완에 소세포폐암의 발생과 진행에 중요한 역할을 하는 종양억제유전자좌가 최소 5개 이상 존재할 가능성을 시사하는 것이다.

염색체 16번 단완에서 대립형질의 결손은 간암의 48%⁸, 고환배세포종의 10% 이상⁹, 관내(intraductal) 유방암의 12%¹⁰, 갑상선암의 62.5%¹¹, 췌장 내분비종양의 36%¹² 등 여러 종류의 종양들에서 관찰된다. 그 이외에도 상피성(epithelial) 난소암^{13,14}, 식도암¹⁵, 담낭암¹⁶, 자궁암¹⁷ 등에서도 16p의 결손이 관찰되어 다양한 암종의 발생 및 진행에 중요한 역할을 하는 종양억제유전자(들)가 16p에 존재할 가능성이 제시되어왔으며, 16p13.3에는 *TSC2*¹⁸와 *UBE2I*¹⁹, 16p13.1에는 *GSPTI*²⁰ 등의 종양 발생 혹은 세포 주기의 조절에 관여하는 다수의 유전자들이 알려져 있다.

결절성 경화증(tuberous sclerosis; TSC)은 발작, 정신 지체, 그리고 뇌, 신장, 피부 등의 다발성 과오종 뿐 아니라²¹ 신장암²² 등이 특징적으로 나타나는 다기관 상염색체 우성 증후군(autosomal dominant syndrome)으로 이 질환을 일으키는 유전자는 9q34에 위치하는 *TSC1*과 16p13.3에 위치하는 *TSC2*이다^{18,23}. 그런데 *TSC2* 부위에는 성인 신부전의 가장 흔한 유전적 원인들 중 하나인 성인 다낭 신질환(adult polycystic kidney disease)을 일으키는데 주로 관여하는 *PKDI*도 존재하며^{24,25}, 이들 유전자들과 암 발생과의 연관성은 폐 선암에서 Suzuki 등이 16p의 LOH를 보고하면서 TSC

associated region에 종양억제유전자가 존재할 가능성을 제시하였다²⁶.

한편 Kraus 등의 보고에 의하면 16p13.3의 *PKDI* 부위에 정확한 기능은 아직 명확히 밝혀져 있지 않으나 cyclin F가 존재하는 것이 최근 확인되었다²⁷. Cyclins은 세포 주기 진행의 결정적인 단계에서 cyclin dependent kinases(cdk)와 결합하여 cdk를 활성화시킴으로써 다양한 질환 발생과 연관이 있어서 cyclin D1의 과발현은 B-cell 림프종²⁸과 유방암²⁹ 등에서 관찰되며, cyclin E 발현의 변화는 유방암 세포주에서 보고된다³⁰. 또한 B형 간염 바이러스는 사람 cyclin A 유전자로 통합(integration)됨으로써 원발성 간암 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다³¹.

사람에서의 cyclins는 상동성(homology)의 주된 부위인 cyclin box 에 따라 cyclins A-E 의 5가지 그룹으로 구분하여 왔는데 최근 cyclin G와 cyclin F가 확인되었으며, cyclin G는 epidermal growth factor receptor(EGFR)의 tyrosine 인산화 부위(phosphorylation site)와 유사한 C terminal sequence를 가지는 cyclin box와 결합하지만 cyclin F는 이러한 뚜렷한 motif가 없어서 아직 정확한 기능은 밝혀져 있지 않다.

16p13에 존재하는 유전자의 변이는 암 발생의 진행 단계와도 밀접한 연관이 있어서 유방의 유두상 암종(papillary carcinoma)의 63% 뿐 아니라 전암 병소인 상피성 증식(epithelial hyperplasia)을 가진 관내 유두종(intraductal papilloma)의 60%에서도 대립형질의 결손이 발견되며³², 폐 선암의 전암병소로 생각되는 비정형의 선종성 증식(atypical adenomatous hyperplasia)에서도 16p의 LOH 가 22%에서 발견되므로³³ 이 부위는 유방암 및 폐 선암의 발생 초기 단계부터 일부 역할을 담당하는 것으로 생각된다.

그런데 흥미로운 것은 Sanchez-Cespedes 등의 보고에 의하면 흡연자에서 발생한 폐 선암에서는

3p, 6q, 9p, 17p, 19p 등 뿐 아니라 16p에서의 LOH 빈도가 28%로 비흡연자의 0%에 비해 현저하게 높았는데³⁴ 이러한 결과는 흡연자에서 흔하게 관찰되는 일련의 암 발생 사건과는 다르게 비흡연자에서는 별개의 유전적 변이에 의해 암이 발생할 가능성이 시사하는 것으로 생각된다.

관내 유방암에서도 조직학적 진행 단계에 따라 유전자 변이의 빈도가 달라지는데 grade 1에서 9%, grade 2에서 13% 이던 것이 grade 3에서는 18%로 16p LOH의 빈도가 점차 증가하기 때문에 이는 유방암의 악성화 단계와 연관이 있을 것으로 생각되며³⁵, 이러한 결과들은 Fearon과 Vogelstein의 대장암 발생 모델과 상응하는 것으로 생각된다³⁶.

특히 16p13.3의 빈번한 LOH는 매우 빠르게 성장하고 전이를 잘하여 예후가 매우 불량한 역형성(anaplastic) 갑상선암에서 특이하게 발견되기 때문에 유두상 갑상선암이 역형성 암으로 형질전환하는데 깊은 관련이 있는 것으로 생각된다^{37,38}. Konoike 등의 comparative genomic hybridization을 이용한 연구에 따르면 유두상 갑상선암에서 유도된 세포주에서 관찰되지 않는 염색체 16p와 18q에서의 빈번한 결손이 역형성 갑상선암 세포주에서는 관찰되며¹¹, 또한 Kadota 등의 현미부수체 분석에 따르면 유두상 갑상선암에서 발견되지 않는 LOH가 역형성 암종에서 특이하게 50~66.6%까지 높은 빈도로 발견됨으로써 이러한 염색체 변이가 갑상선암의 악성화와 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다³⁷. 그러나 본 연구 결과에서는 진행성 병기가 1예(SCLC2) 뿐이었지만 LOH가 제한성 병기인 SCLC1과 비교하여 차이점이 없어서 이에 대한 추가적인 검증이 필요하리라 생각된다.

16p13.3 부위에 존재하는 또 다른 유전자인 *Axin1*은 Wnt 신호 전달 경로에 관여하는 요소들 중의 하나로 배아의 발달 과정 중 발생하는 많은 분화(differentiation) 사건들에 참여한다. 그러나 APC 유전자의 변이처럼 이러한 신호 전달 경로에

관여하는 요소들에 이상이 발생하면 β -catenin 이 안정화되고 핵 속으로 전위(translocation)가 되면서 종양을 형성할 수 있다는 것이 알려져 있으며³⁹, 또한 다수의 암세포주에서는 *Axin1* 그 자체의 변이도 보고된다^{40,41}. 이러한 *Axin1*과 주변 요소들의 일부 변화가 역형성 갑상선암에서의 암 발생에 일부 관여를 하는 것으로 생각된다⁴². 그러나 간암에서는 16p의 결손이 관찰되는 경우에는 β -catenin 돌연변이가 관찰되지 않기 때문에 간암 발생에는 β -catenin 활성화 돌연변이 혹은 Wnt 경로에 속한 종양억제유전자, 특히 *Axin* 유전자 이상의 2가지 기전이 관여하는 것으로 생각된다⁴³. 또한 동일한 부위에 위치하는 UBE2I (ubiquitin conjugating enzymes)는 ubiquitin 의존성 단백질 분해 계통에 포함된 단백질의 family로 주로 효모(yeast)에서 발견되어 DNA 교정(repair), 세포 주기 조절, 스트레스 반응 같은 필수적인 세포 과정에 참여한다. 사람에서 UBE2I 는 WT1과의 상호작용을 통하여 유사한 역할을 하는 것으로 생각되며, 진핵 세포(eukaryotic cells)에서 세포 주기 진행을 억지로 차단시킬 수 있는 것으로 생각된다¹⁹.

16p13.1 부위에는 다제 내성 단백질(multidrug resistance protein)을 암호화하는(encoding) *MRP1*이라는 유전자가 존재한다. *MRP1*은 ATP가 결합하는 막(membrane) 수송 단백질의 superfamily 일원으로 다제약제 내성에 관여할 뿐 아니라 유기 음이온의 배합체(organic anionic conjugates; glutathione conjugates), glucuronides, 그리고 담즙 염 같은 많은 물질들의 능동적 운송에 관여하는데⁴⁴⁻⁴⁸ 급성 골수성 백혈병 환자의 일부에서 염색체 16번이 역전(inversion) 되면서 *MRP1* 유전자의 결손도 함께 관찰되며⁴⁹, 이러한 *MRP1*의 결손은 해당 세포의 약제 내성 능력을 감소시킴으로써 항암약물치료에 대한 양호한 효과때문에 환자의 생존율을 의미 있게 향상시킨다⁵⁰. 이외에도 16p13.1에는 *GSTP1*⁵¹, *TNFRSF17*⁵², *PIG7*⁵³ 등의 세포 주기와

사멸(apoptosis)에 관여하는 다양한 유전자들이 존재함으로써 이러한 유전자들이 암 발생 과정에 어떠한 역할을 하는지에 대한 규명이 필요할 것으로 생각된다.

한편 16p13.1에는 tumor necrosis factor (TNF) receptor family member에 속하는 BCMA (B cell maturation)가 존재하는데 BCMA는 사람 T 세포 림프종의 특징인 t(4;16) 전위의 분자생물학적 분석에 의해 발견된 유전자로⁵⁴ TNF-related ligand인 B cell activating factor (BAFF)가 BCMA, TACI, BAFF R 등 3가지 수용체에 결합하여 B 세포 생존을 향상시킨다⁵⁵. BCMA는 성숙한 B 림프구에서 선택적으로 표현되는 비당화(nonglycosylated) 통합성 type I 막 단백질이다. BCMA는 핵 주위 Golgi양 구조 내부뿐만 아니라 세포 표면에 위치하며, BCMA의 과발현은 NF- κ B, Elk-1, c-Jun N-terminal kinase(JNK), p38 mitogen activated protein kinase(p38 MAPKs)를 활성화시킴으로써 세포 생존과 증식의 신호를 변환시키는 것으로 생각되는데 만약 BCMA의 돌연변이가 발생하면 이러한 요소들을 활성화시키지 못하게 된다⁵⁶.

16p13.13에는 SH2 domain을 포함하는 JAK-binding protein이라는 단백질을 암호화하는 JAB이라는 종양억제유전자가 위치한다. 많은 계보(lineage)의 세포들의 증식과 분화는 여러 가지 사이토카인들에 의해 조절되는 것으로 알려져 있다. 많은 사이토카인들은 JAK-STAT 경로라는 유일한 신호전달 체계를 통해 생물학적 효과를 발휘하여 세포핵에 있는 표적 유전자의 활성화를 유도한다. JAB와 JAK family members와의 상호작용은 이들 산물의 tyrosine-kinase 활성도를 감소시키고, tyrosine 인산화와 STATs의 활성화를 억제한다⁵⁷. JAB는 사이토카인 자극에 의해 유도되는 JAK-STAT 경로의 negative-feedback regulation에 관여하는 것으로 알려져 있다^{58,59}.

본 연구 결과 16p13.3-16p13.1 부위에서는 LOH가 14.3~21.1%에서 발견되어 16p13에 존재하는 최소 3개의 종양억제유전자들이 소세포폐암의 암 발생 및 진행 과정에 일부 역할을 담당할 것으로 추정된다.

신경모세포종(neuroblastoma)은 소아에서 가장 흔히 발생하는 고형암 중의 하나로 대부분은 산발적으로 나타나지만 드물게는 가족들 내에서도 발생한다. 16p12-p13에는 hereditary neuroblastoma predisposition locus(HNBI)가 존재하며, 이 부위 유전자의 배선(germ-line) 돌연변이는 유전성 신경모세포종의 발생에, 그리고 이차적인 체성 돌연변이(somatic mutation)는 악성 변화에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다⁶⁰. 또한 산발성 신경모세포종은 약 20%에서 16p12-p13부위의 LOH가 발견되므로 HNBI는 RBI와 유사하게 초기 단계에서 발생한 체성 양측 대립형질 불활성화에 의해 종양이 유발되는 것으로 생각된다⁶¹.

16p12-p13.3에는 LITAF(LPS induced TNF- α factor) 유전자가 존재한다. Lipopolysaccharide(LPS)는 tumor necrosis factor α 와 다른 염증성 매개체들을 분비하는 단핵세포와 대식세포의 강력한 자극물질이며, LITAF는 사람 TNF- α 유전자를 활성화시키는데 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다⁶². TNF- α 는 숙주에 이득이 되기도 하고, 유해할 수도 있는 사이토카인으로 암을 예방하는데 도움이 될 수 있고⁶³, 감염을 방지하며⁶⁴, 조직 재형성을 향상시키고⁶⁵, 염증 반응을 활성화시킨다⁶⁶. 반면에 TNF- α 는 만성 염증에서 패혈성 쇼크를 유도하며⁶⁷, 암 환자에서 건강불량 상태의 쇠약을 일으키기도 하는 것으로 알려져 있다⁶⁸.

16p11.2에는 syntaxin 1B(STX1B)가 존재하는데 syntaxins는 수송 소포(vesicles)를 위한 세포 수용체이다. 이러한 단백질을 중 하나가 STX1B로 쥐의 뇌에서 칼슘 의존성 시냅스 전도(synaptic transmission)의 과정에 직접 참여하며, 흥분 경로

에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다⁶⁹. 이 단백질은 소세포폐암과 연관된 Lambert-Eaton myasthenic syndrome 같은 다수의 신경성 질환들에서 관련이 있는 것으로 알려져 있다. STX1B 유전자가 위치하는 16p11에서의 염색체 단절(breaks) 및 재배열(rearrangements)은 점액성의 지방육종(myxoid liposarcoma)과 급성 골수성 백혈병에서 관찰된다⁷⁰.

16p11-12에는 백혈구 유착(adhesion)과 이동(migration)을 포함하는 염증 과정에 중요한 역할을 하는 alpha integrins(*CD11A-D*)가 있는데 이러한 유전자들은 염증성 장 질환의 병인에 중요한 역할을 한다⁷¹. 또한 16p11.2-q12.1의 중심절주위 부위에는 paroxysmal kinesigenic choreoathrosis (PKC)와 연관된 유전자가 있는데 PKC는 갑자기 자발적인 운동을 하면 반복적인 짧은 기간의 불수의 운동 발작이 나타나는 것을 특징으로 하는 질병으로^{72,73} 이러한 유전자들은 암 발생과는 연관이 없는 것으로 생각된다.

16p11.2-p12.1에는 *MMVP-1*(myxomatous mitral valve prolapse) 유전자가 존재하는데 이것은 Barlow disease 라는 질병과 연관이 있다. 이것은 승모판의 점액종성 변성과 교원질 및 탄력소의 변성에 의해 승모판막이 정상적인 위치로부터 탈출되는 질병이다⁷⁴.

본 연구 결과에서는 16p12.3과 16p11.1-16q11.1의 중심절 주위에서 각각 8.3%의 LOH가 확인되었는데 이러한 결과와 현재까지 알려지거나 알려지지 않은 유전자들과의 관련성에 대한 규명이 필요할 것으로 생각된다.

본 연구 결과 LOH 빈도가 낮은 것은 암과 관련된 특이 변화라기보다는 무작위적인 유전적 변형일 가능성도 배제하기 어렵다⁷⁵. 그러나 LOH의 빈도가 50% 이상을 보인 경우가 없었다는 문제점이 있음에도 불구하고 본 연구 결과를 종합하여 보면 현재까지의 보고들과 유사한 결과를 보임을 알 수

있어서 염색체 16번의 단완에는 최소한 5개의 소세포폐암 관련 종양억제유전자좌들이 존재할 것으로 추정된다. 또한 현미부수체 분석 결과 불안정화는 460개의 loci 중 오직 3.3%인 15개에서만 발견되어 이러한 돌연변이 유발 유전자 표현형이 소세포폐암의 진행에 주된 역할을 하기 보다는 암 발생의 초기 단계에서 일부 충동적 역할을 하는 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 :

다양한 암종들에서 빈번히 발견되는 염색체 16번 단완의 돌연변이가 소세포폐암의 발생 및 진행과 관련하여 어떤 양상을 보이는지 알아보기 위해 우리나라 소세포폐암 환자들을 대상으로 종양억제유전자좌를 찾고자 하였다.

대상 및 방법 :

연세대학교 의과대학 세브란스병원에서 원발성 소세포폐암으로 진단된 23명의 남자 환자를 대상으로 하였다. 암 조직과 이에 대응하는 정상 조직의 파라핀 포매 블록으로부터 DNA를 추출하였으며, 염색체 16번 단완에 위치하는 20개의 현미부수체 표지자들을 이용하여 PCR-LOH 분석을 시행하였다.

결 과 :

- 1) 23예 중에서 LOH가 1개라도 관찰된 경우는 6예로 26.1%이었다(Fig. 1).
- 2) LOH가 있는 6예 중에서 비교적 넓은 부위의 결손이 관찰된 경우는 2예(*SCLC1*, *SCLC2*)로써 전체의 8.7%이었다(Fig. 1).
- 3) 검사를 시행한 20개의 표지자들중 50% 이상의 LOH 빈도를 보인 경우는 없었으나 다른 부위와 비교하여 우월하게 빈번한 빈도를 보인 부위는 *D16S3024*와 *D16S748* 사이에서 18.2%, *D16S405*에서 14.3%, *D16S668*과 *D16S749* 사이에서 21.1%, 그리고 *D16S420*과 *D16S753*에서

각각 8.3% 의 빈도로 관찰되었다(Table 1, Fig. 1, Fig. 2).

- 4) Shifted bands는 23에 중 6에에서 관찰되었는데 altered loci의 빈도는 5~35% 이었다(Fig. 1, Fig. 2).
- 5) Shifted bands는 검사한 총 460개 loci중 3.3% 인 15 loci에서 관찰되었다(Fig. 1).

결 론 :

본 연구 결과 LOH 빈도가 낮은 문제점이 있으나 염색체 16번의 단완에는 원발성 소세포폐암 일부에서 종양의 발생 및 진행에 관여하는 최소 5개의 종양억제유전자좌가 존재할 가능성이 있는 것으로 추정되며, 향후 특이 유전자를 찾기 위한 추가적인 노력이 있어야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. 보건복지부. 한국중앙암등록사업 제 20차 연례 보고서. 2002.
2. Wingo PA, Cardinez CJ, Landis SH, Greenlee RT, Ries LA, Anderson RN, Thun MJ. Long term trends in cancer mortality in the United States, 1930-1998. *Cancer* 2003;97:3133-275.
3. Kim SK, Ro JY, Kemp BL, Lee JS, Kwon TJ, Fong KM, et al. Identification of three distinct tumor suppressor loci on the short arm of chromosome 9 in small cell lung cancer. *Cancer Res* 1997;57:400-3.
4. Kim SK, Ro JY, Kemp BL, Lee JS, Kwon TJ, Hong WK, et al. Identification of two distinct tumor-suppressor loci on the long arm of chromosome 10 in small cell lung cancer. *Oncogene* 1998;17:1749-53.
5. 조은송, 김호근, 조철호, 장준, 정경영, 김영삼, 박재민, 김성규, 김세규. 원발성 소세포폐암에서 염색체 5번의 장완에 위치한 종양억제유전자좌의 확인. *결핵 및 호흡기질환* 2000;49(1): 49-59.
6. Cho ES, Chang J, Chung KY, Shin DH, Kim YS, Kim SK, Kim SK. Identification of tumor suppressor loci on the long arm of chromosome 4 in primary small cell lung cancers. 2002; *YMJ* 43(2):145-51.
7. Kee HJ, Shin JH, Chang J, Chung KY, Shin DH, Kim YS, Kim SK, Kim SK. Identification of tumor suppressor loci on the long arm of chromosome 15 in primary small cell lung cancer. *YMJ* 2003; 44(1):65-74.
8. Koyama M, Nagai H, Bando K, Ito M, Moriyama Y, Emi M. Localization of a target region of allelic loss to a 1-cM interval on chromosome 16p.13.13 in hepatocellular carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1999;90:951-6.
9. al-Jehani RM, Povey S, Delhanty JD, Partridge JM. Loss of heterozygosity on chromosome arms 5q, 11p, 11q, 13q, and 16p in human testicular germ cell tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 1995;13:249-56.
10. Tsuda H, Fukutomi T, Hirohashi S. Pattern of gene alterations in intraductal breast neoplasms associated with histological type and grade. *Clin Cancer Res* 1995;1:261-7.
11. Komoike Y, Tamaki Y, Sakita I, Tomita N, Ohue M, Sekimoto M, Miyazaki M, et al. Comparative genomic hybridization defines frequent loss on 16p in human anaplastic thyroid carcinoma. *Int J Oncol.* 1999;14: 1157-62.
12. Chung DC, Brown SB, Graeme-Cook F, Tilloson LG, Warshaw WL, Jensen RT, et al. Localization of putative tumor suppressor loci by genome-wide allelotyping in human

- pancreatic endocrine tumors. *Cancer Res.* 1998;58:3706-11.
13. Okada S, Tsuda H, Takarabe T, Yoshikawa H, Taketani Y, Hirohashi S. Allelotype analysis of common epithelial ovarian cancers with special reference to comparison between clear cell adenocarcinoma with other histological types. *Jpn J Cancer Res* 2002;93: 798-806.
 14. Sato T, Saito H, Morita R, Koi S, Lee JH, Nakamura Y. Allelotype of human ovarian cancer. *Cancer Res* 1991;51:5118-22.
 15. Yen CC, Chen YJ, Chen JT, Hsia JY, Chen PM, Liu JH, Fan FS, Chiou TJ, et al. Comparative genomic hybridization of esophageal squamous cell carcinoma: correlations between chromosomal aberrations and disease progression/prognosis. *Cancer* 2001; 92:2769-77.
 16. Nakayama K, Konno M, Kanzaki A, Morikawa T, Miyashita H, Fujioka T, et al. Allelotype analysis of gallbladder carcinoma associated with anomalous junction of pancreaticobiliary duct. *Cancer Lett* 2001;166: 135-41.
 17. Mullokandov MR, Kholodilov NG, Atkin NB, Burk RD, Johnson AB, Klinger HP. Genomic alterations in cervical carcinoma: losses of chromosome heterozygosity and human papilloma virus tumor status. *Cancer Res* 1996;56:197-205.
 18. Green AJ, Smith M, Yates JR. Loss of heterozygosity on chromosome 16p13.3 in hamartomas from tuberous sclerosis patients. *Nat Genet* 1994;6:193-6.
 19. Tachibana M, Iwata N, Watanabe A, Nobukuni Y, Ploplis B, Kajigaya S. Assignment of the gene for a ubiquitin-conjugating enzyme (UBE2I) to human chromosome band 16p13.3 by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet.* 1996;75:222-3.
 20. Ozawa K, Murakami Y, Eki T, Yokoyama K, Soeda E, Hoshino S, Ui M, Hanaoka F. Mapping of the human GSPT1 gene, a human homolog of the yeast GST1 gene, to chromosomal band 16p13.1. *Somat Cell Mol Genet* 1992;18:189-94.
 21. Gomez M. Tuberous sclerosis. New York, NY, Raven Press, 1988.
 22. Bjornsson J, Short M, Kwiatkowski DJ, Henske EP. Tuberous sclerosis-associated renal cell carcinoma: Clinical, pathological, and genetic features. *Am J Pathol* 1996; 149:1201-8.
 23. Povey S, Armour J, Fardon P, et al. Report on 3rd International Chromosome 9 Workshop. *Ann Hum Genet* 1994;58:177-250.
 24. Rondeau E. Polycystic kidney: complete structure of the PKD1 gene and its protein. *Nephrologie.* 1995;16:338-9.
 25. Gogusev J, Murakami I, Doussau M, Telvi L, Stojkoski A, Lesavre P, Droz D. Molecular cytogenetic aberrations in autosomal dominant polycystic kidney disease tissue. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14:359-66.
 26. Suzuki K, Ogura T, Yokose T, Nagai K, Mukai K, Kodama T, Nishiwaki Y, Esumi H. Loss of heterozygosity in the tuberous sclerosis gene associated regions in adenocarcinoma of the lung accompanied by multiple atypical adenomatous hyperplasia. *Int J Cancer* 1998;79:384-9.

27. Kraus B, Pohlschmidt M, Leung AL, Germino GG, Snarey A, Schneider MC, et al. A novel cyclin gene (CCNF) in the region of the polycystic kidney disease gene (PKD1). *Genomics*. 1994;24:27-33.
28. Lammie GA, Fantl V, Smith R, Schuurin E, Brookes S, Michalides R, Dickson C, et al. D11S287, a putative oncogene on chromosome 11q13, is amplified and expressed in squamous cell and mammary carcinomas and linked to BCL-1. *Oncogene*. 1991;6:439-44.
29. Buckley MF, Sweeney KJ, Hamilton JA, Sini RL, Manning DL, Nicholson RI, et al. Expression and amplification of cyclin genes in human breast cancer. *Oncogene*. 1993;8:2127-33.
30. Keyomarsi K, Pardee AB. Redundant cyclin overexpression and gene amplification in breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:1112-6.
31. Wang J, Zindy F, Chenivresse X, Lamas E, Henglein B, Brechot C. Modification of cyclin A expression by hepatitis B virus DNA integration in a hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 1992;7:1653-6.
32. Lininger RA, Park WS, Man YG, Pham T, MacGrogan G, Zhuang Z, Tavassoli FA. LOH at 16p13 is a novel chromosomal alteration detected in benign and malignant microdissected papillary neoplasms of the breast. *Hum Pathol* 1998;29:1113-8.
33. Takamochi K, Ogura T, Suzuki K, Kawasaki H, Kurashima Y, Yokose T, Ochiai A, et al. Loss of heterozygosity on chromosomes 9q and 16p in atypical adenomatous hyperplasia concomitant with adenocarcinoma of the lung. *Am J Pathol* 2001;159:1941-8.
34. Sanchez-Cespedes M, Ahrendt SA, Piantadosi S, Rosell R, Monzo M, Wu L, et al. Chromosomal alterations in lung adenocarcinoma from smokers and nonsmokers. *Cancer Res*. 2001;61:1309-13.
35. Tsuda H, Fukutomi T, Hirohashi S. Pattern of gene alterations in intraductal breast neoplasms associated with histological type and grade. *Clin Cancer Res* 1995;1:261-7.
36. Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61:759-67.
37. Kadota M, Tamaki Y, Sakita I, Komoike Y, Miyazaki M, Ooka M, Masuda N, et al. Identification of a 7-cM region of frequent allelic loss on chromosome band 16p13.3 that is specifically associated with anaplastic thyroid carcinoma. *Oncol Rep* 2000;7(3):529-35.
38. Kadota M, Tamaki Y, Sekimoto M, Fujiwara Y, Aritake N, Hasegawa S, et al. Loss of heterozygosity on chromosome 16p and 18q in anaplastic thyroid carcinoma. *Oncol Rep* 2003;10:35-8.
39. Seidensticker MJ, Behrens J. Biological interactions in the wnt pathway. *Biochim Biophys Acta* 2000;1495:168-82.
40. Webster MT, Rozycka M, Sara E, Davis E, Smalley M, Young N, Dale TC, et al. Sequence variants of the axin gene in breast, colon, and other cancers: an analysis of mutations that interfere with GSK3 binding. *Genes Chromosomes Cancer* 2000;28:443-53.
41. Satoh S, Daigo Y, Furukawa Y, Kato T, Miwa N, Nishiwaki T, Kawasoe T, et al.

- AXIN1 mutations in hepatocellular carcinomas, and growth suppression in cancer cells by virus-mediated transfer of AXIN1. *Nat Genet* 2000;24:245-50.
42. Garcia-Rostan G, Tallini G, Herrero A, D'Aquila TG, Carcangiu ML, Rimm DL. Frequent mutation and nuclear localization of beta-catenin in anaplastic carcinoma. *Cancer Res* 1999;59:1811-5.
43. Legoix P, Bluteau O, Bayer J, Perret C, Balabaud C, Belghiti J, Franco D, et al. Beta-catenin mutations in hepatocellular carcinoma correlate with a low rate of loss of heterozygosity. *Oncogene* 1999;18:4044-6.
44. Muller M, Meijer C, Zaman GJ, Borst P, Scheper RJ, Mulder NH, de Vries EG, et al. Overexpression of the gene encoding the multidrug resistance-associated protein results in increased ATP-dependent glutathione S-conjugate transport. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:13033-7.
45. Leier I, Jedlitschky G, Buchholz U, Center M, Cole SP, Deeley RG, Keppler D. ATP-dependent glutathione disulphide transport mediated by the MRP gene encoded conjugate export pump. *Biochem J*. 1996;314:433-7.
46. Jedlitschky G, Leier I, Buchholz U, Barnouin K, Kurz G, Keppler D. Transport of glutathione, glucuronate, and sulfate conjugates by the MRP gene-encoded conjugate export pump. *Cancer Res*. 1996;56:988-94.
47. Loe DW, Almquist KC, Cole SP, Deeley RG. ATP-dependent 17 beta-estradiol 17-(beta-D-glucuronide) transport by multidrug resistance protein (MRP). Inhibition by cholestatic steroids. *J Biol Chem*. 1996;271:9683-9.
48. Loe DW, Stewart RK, Massey TE, Deeley RG, Cole SP. ATP-dependent transport of aflatoxin B1 and its glutathione conjugates by the product of the multidrug resistance protein (MRP) gene. *Mol Pharmacol*. 1997;51:1034-41.
49. Kuss BJ, Deeley RG, Cole SP, Willman CL, Kopecky KJ, Wolman SR, Eyre HJ, et al. The biological significance of the multidrug resistance gene MRP in inversion 16 leukemias. *Leuk Lymphoma*. 1996;20:357-64.
50. Kuss BJ, Deeley RG, Cole SP, Willman CL, Kopecky KJ, Wolman SR, Eyre HJ, et al. Deletion of gene for multidrug resistance in acute myeloid leukaemia with inversion in chromosome 16: prognostic implications. *Lancet*. 1994;343:1531-4.
51. Ozawa K, Murakami Y, Eki T, Yokoyama K, Soeda E, Hoshino S, Ui M, Hanaoka F. Mapping of the human GSPT1 gene, a human homolog of the yeast GST1 gene, to chromosomal band 16p13.1. *Somat Cell Mol Genet* 1992;18:189-94.
52. Laabi Y, Gras MP, Carbonnel F, Brouet JC, Berger R, Larsen CJ, Tsapis A. A new gene, BCM, on chromosome 16 is fused to the interleukin 2 gene by a t(4;16)(q26;p13) translocation in a malignant T cell lymphoma. *EMBO J*. 1992;11:3897-904.
53. Polyak K, Xia Y, Zweier JL, Kinzler KW, Vogelstein B. A model for p53-induced apoptosis. *Nature*. 1997;389:300-5.
54. Madry C, Laabi Y, Callebaut I, Roussel J, Hatzoglou A, Le Coniat M, Mornon JP, et al. The characterization of murine BCMA gene

- defines it as a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily. *Int Immunol*. 1998;10:1693-702.
55. Schiemann B, Gommerman JL, Vora K, Cachero TG, Shulga-Morskaya S, et al. An essential role for BAFF in the normal development of B cells through a BCMA independent pathway. *Science*. 2001;293:2111-4.
56. Hatzoglou A, Roussel J, Bourgeade MF, Rogier E, Madry C, Inoue J, Devergne O, et al. TNF receptor family member BCMA (B cell maturation) associates with TNF receptor associated factor (TRAF) 1, TRAF2, and TRAF3 and activates NF-kappa B, elk-1, c-Jun N-terminal kinase, and p38 mitogen-activated protein kinase. *J Immunol*. 2000 Aug 1;165(3):1322-30.
57. Endo TA, Masuhara M, Yokouchi M, Suzuki R, Sakamoto H, Mitsui K, et al. A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases. *Nature*. 1997;387:921-4.
58. Naka T, Narazaki M, Hirata M, Matsumoto T, Minamoto S, Aono A, et al. Structure and function of a new STAT induced STAT-inhibitor. *Nature*. 1997;387:924-9.
59. Kuroki T, Fujiwara Y, Tsuchiya E, Nakamori S, Imaoka S, Kanematsu T, Nakamura Y. Accumulation of genetic changes during development and progression of hepatocellular carcinoma: loss of heterozygosity of chromosome arm 1p occurs at an early stage of hepatocarcinogenesis. *Genes Chromosomes Cancer*. 1995;13:163-7.
60. Maris JM, Weiss MJ, Mosse Y, Hii G, Guo C, White PS, Hogarty MD, Mirensky T, et al. Evidence for a hereditary neuroblastoma predisposition locus at chromosome 16p12-13. *Cancer Res* 2002;62:6651-8.
61. Weiss MJ, Guo C, Shusterman S, Hii G, Mirensky TL, White PS, Hogarty MD, et al. Localization of a hereditary neuroblastoma predisposition gene to 16p12-p13. *Med Pediatr Oncol* 2000;35:526-30.
62. Myokai F, Takashiba S, Lebo R, Amar S. A novel lipopolysaccharide-induced transcription factor regulating tumor necrosis factor alpha gene expression: molecular cloning, sequencing, characterization, and chromosomal assignment. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1999; 96:4518-23.
63. Sugarman BJ, Aggarwal BB, Hass PE, Figari IS, Palladino MA Jr, Shepard HM. Recombinant human tumor necrosis factor-alpha: effects on proliferation of normal and transformed cells in vitro. *Science*. 1985;230: 943-5.
64. Alexander HR, Sheppard BC, Jensen JC, Langstein HN, Buresh CM, Venzon D, et al. Treatment with recombinant human tumor necrosis factor-alpha protects rats against the lethality, hypotension, and hypothermia of gram-negative sepsis. *J Clin Invest*. 1991; 88:34-9.
65. Beutler B, Cerami A. The biology of cachectin/TNF-a primary mediator of the host response. *Annu Rev Immunol*. 1989;7:625-55.
66. Talmadge JE, Phillips H, Schneider M, Rowe T, Pennington R, Bowersox O, Lenz B. Immunomodulatory properties of recombinant murine and human tumor necrosis factor. *Cancer Res*. 1988;48:544-50.

67. Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC, Lowry SF, Cerami A. Anti cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature*. 1987;330:662-4.
68. Beutler B, Cerami A. The history, properties, and biological effects of cachectin. *Biochemistry*. 1988;27:7575-82.
69. Smirnova T, Stinnakre J, Mallet J. Characterization of a presynaptic glutamate receptor. *Science*. 1993;262:430-3.
70. Smirnova T, Miniou P, Viegas Pequignot E, Mallet J. Assignment of the human syntaxin 1B gene (STX) to chromosome 16p11.2 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics*. 1996;36:551-3.
71. Frenzel H, Hampe J, Huse K, Mascheretti SM, Croucher PP, Lynch NJ, Siebert R, et al. Mutation detection and physical mapping of the CD11 gene cluster in association with inflammatory bowel disease. *Immunogenetics*. 2002;53:835-42.
72. Tomita H, Nagamitsu S, Wakui K, Fukushima Y, Yamada K, Sadamatsu M, et al. Paroxysmal kinesigenic choreoathetosis locus maps to chromosome 16p11.2-q12.1. *Am J Hum Genet*. 1999;65:1688-97.
73. Tomita H, Yamada K, Ghadami M, Ogura T, Yanai Y, Nakatomi K, Sadamatsu M, et al. Mapping of the wet/dry earwax locus to the pericentromeric region of chromosome 16. *Lancet*. 2002;359:2000-2.
74. Disse S, Abergel E, Berrebi A, Houot AM, Le Heuzey JY, Diebold B, Guize L, et al. Mapping of a first locus for autosomal dominant myxomatous mitral-valve prolapse to chromosome 16p11.2-p12.1. *Am J Hum Genet*. 1999;65:1242-51.
75. Virmani AK, Fong KM, Kodagoda D, McIntire D, Hung J, Tonk V, Minna JD, et al. Allelotyping demonstrates common and distinct patterns of chromosomal loss in human lung cancer types. *Genes Chromosomes Cancer*. 1998;21:308-19.