

비소세포폐암 환자의 혈장 DNA를 이용한 Microsatellite 분석

하순 전남대학교 병원 폐식도 종양 클리닉¹, 전남대학교 의과대학 호흡기 내과학교실², 법의학교실³
김규식^{1,2}, 김은정², 김수옥², 오인재², 박창민², 정주연^{1,2}, 김유일², 임성철², 박종태³, 김영철^{1,2}

Microsatellite Alterations of Plasma DNA in Non Small Cell Lung Cancer

Kyu-Sik Kim, M.D.^{1,2}, Eun-Jung Kim, M.D.², Soo-Ock Kim, M.D.², In-Jae Oh, M.D.², Chang-Min Park, M.D.²,
Ju-Yeon Jeong, M.D.^{1,2}, Yu-Il Kim, M.D.², Sung-Chul Lim, M.D.², Jong-Tae Park³, Young-Chul Kim, M.D.^{1,2}

Lung and Esophageal Cancer Clinic, Chonnam National University Hwasun Hospital¹ Department of Pulmonology and Critical Care Medicine² Department of Forensic Medicine³, Chonnam National University Medical School, South Korea

Microsatellites are short tandem repeated nucleotide sequences that are present throughout the human genome. Variations in the repeat number or a loss of heterozygosity around the microsatellites have been termed a microsatellite alteration (MA). A MA reflects the genetic instability caused by an impairment in the DNA mismatch repair system and is suggested to be a novel tumorigenic mechanism. A number of studies have reported that MA in the DNA extracted from the plasma occurs at varying frequencies among patients with a non-small cell lung carcinoma (NSCLC).

The genomic DNA from 9 subjects with a non-small cell lung cancer (squamous cell cancer 6, adenocarcinoma 2, non-small cell lung cancer1) and 9 age matched non-cancer control subjects (AMC: tuberculosis 3, other inflammatory lung disease 6) and 12 normal control subjects (NC) were extracted from the peripheral blood leukocytes and plasma. Three microsatellite loci were amplified with the primers targeting the Gene Bank sequence D21S1245, D3S1300, and D3S1234. MA in the form of an allelic loss or a band shift was examined with 6% polyacrylamide gel electrophoresis and silver staining.

None (0/12) of the NC subjects less than 40 years of age showed a MA in any of the three markers, while 88.9%(8/9) of the AMC above 40 showed a MA in at least one of the three markers ($p<0.05$). Sixty percent(6/10) of the control subjects with a smoking history showed a MA in one of the three markers, while 9.1%(1/11) of the control subjects without smoking history showed a MA ($p<0.05$). However, not only did 66.7%(6/9) of lung cancer patients show a MA in at least one of the three markers but so did 88.9%(8/21) of the AMC patients ($p>0.05$).

In conclusion, a MA in the D21S1245, D3S1300, and D3S1234 loci using DNA extracted from the plasma was detected in 66.7% of lung cancer while no MA was found in the young non-smoking control subjects. However, many of the non-cancer control subjects (aged smokers) also showed a MA, which compromised the specificity of the MA analysis as a screening test. Therefore, a further study with a larger sample size will be needed.

(*Tuberc Respir Dis* 2005; 58: 352-358)

Key words : Non-Small Cell Lung cancer, Microsatellite Alteration, Plasma DNA

서 론

암은 결국 다양한 유전자 이상들이 축적되어 발생

본 연구는 전남대학교 임상연구소 연구비 CUHRI-U-200310 에 의하여 이루어 졌음.

Address for correspondence : **Young-Chul Kim, M.D.**
Lung and Esophageal Cancer Clinic Department of
Pulmonology and Critical Care Medicine Chonnam
National University Hwasun Hospital Jeollanamdo,
Hwasun, IIsim-ri 160, 519-809

Phone : 82-61-379-7614 Fax : 82-61-379-7628

E-mail : Kyc0923@jnu.ac.kr

Received : Dec. 20. 2004

Accepted : Jan. 20. 2005

된다고 이해되고 있는데 악성 종양은 최소한 10-20단계 이상의 유전자 이상들이 중첩되어 발생된다고 알려져 있다. 암세포에서 발견되는 변화들로는 전암 유전자들의 활성화, 종양 억제 유전자들의 기능 소실, 잘못 복사되거나 손상을 입은 DNA를 복구하는 유전자들의 기능 소실, 정상적으로 세포사멸에 관여하는 인자들의 변화들이 복합되어 관찰된다.

Microsatellite는 매우 작은 염기의 반복되는 단순한 배열로서 전체 유전체(genome)에 흩어져서 존재한다. Microsatellite의 크기는 개체 간에 다형성을 보이면서도 유전자의 진화 과정에서 안정적으로 다음 세대에 유전되며 PCR을 통해서 쉽게 분석할 수 있어

서 유전적 안정성을 측정하는 표식자로서 활용될 수 있다. Microsatellite alteration(MA)는 이러한 단순 반복 단위에 결손 또는 삽입이 나타나는 경우인데 이것은 DNA의 복제 과정에서 간헐적으로 발생하는 염기 구조의 결손을 불일치 복구체계(mismatch repair system)가 적절하게 교정하지 못하여 발생된다. 즉 loss of heterozygosity(LOH) 또는 band shift(BS) 형태로 표현되는 MA가 관찰된다면 DNA의 복제이상(replication error)이 호발하여 다양한 유전자들의 변이가 발생될 개연성이 매우 높는데 실제로 폐암을 포함한 다양한 암종에서 MA는 높은 빈도로 발견된다¹⁻⁴.

최근 암 사망률의 가장 흔한 원인 질환으로 급격한 증가 추세를 보이고 있는 폐암은 방사선학적으로 진단이 어려울 뿐만 아니라 조직 진단이 쉽지 않으므로 조기 진단을 위한 검진이 어려운 문제가 있다. 그런데 최근에 혈장 DNA의 농도가 폐암에서 높으며⁵, MA가 조기 폐암에서도 비교적 높은 빈도로 발견되므로⁶, 혈장 유전자를 이용한 폐암의 진단, 추적 관찰, 예후 예측 방법으로서의 응용 가능성이 제시되고 있다.

저자들은 폐암 환자와 비 폐암 대조군의 말초 혈액 백혈구로부터 추출된 DNA와 혈장 DNA를 이용하여 MA를 비교 조사하여 혈장 DNA를 이용한 MA의 진단적 의의를 알아보고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 대상

2000년 1월부터 전남대학교 병원에서 진단된 폐암

환자들과 비폐암 대조 군으로부터 환자의 동의 하에 얻어진 혈액을 이용하였다. 폐암군 9례 (squamous cell carcinoma 6례, adenocarcinoma 2례, non-small cell lung cancer 1례)의 연령은 평균 63.4세 \pm 10.6(표준편차)를 보였고, 이들과 연령이 비슷한 비폐암 대조군 9례(Age Matched Control, AMC, 결핵: 3례, 비특이적 염증성 폐질환: 6례)는 평균 61.8 \pm 8.4세로써 폐암군과 유의한 연령의 차이는 없었다. 또한 40세 이하의 정상 대조군 12례(Normal Control, NC, 26.9 \pm 4.0세)를 함께 조사하였다(Table 1).

2. DNA 추출

혈액 5cc를 EDTA가 처리된 용기에 채취하여 1,500 rpm (HA-1000-3, Hanil Science, Incheon) 에서 20분간 원심 분리하여 상층(혈장)과 혈구 세포를 분리하였다.

1) 말초 혈액 백혈구에서 DNA 추출

혈장을 취하고 남은 혈구세포를 15 ml polypropylene tube에 옮겨 1x RBC lysis buffer (150mM NH₄Cl, 20 mM Tris pH 8.0)를 넣고 37°C 항온 수조에서 20-25분간 흔들어 주고 1,500 rpm(HA-1000-3, Hanil Science, Incheon)에서 10분간 원심 분리하여 침전물만 취하는 과정을 2회 반복하였다. 이렇게 얻은 침전물에 TEN buffer 375 μ L, 10% SDS 25 μ L, proteinase-K 10 mg/ml 10 μ L를 넣고 37°C 항온 수조에 넣어 16시간이상 부치시킨 다음 eppendorf tube에 반응물을 옮기고 5 M NaCl 160 μ L를 첨가하여 잘 혼합한 다음 13,000 rpm (5415C, Eppendorf, Hamburg, Germany)으로 20분간

Table 1. Characteristics of the Lung Cancer patients, Age Matched Control(AMC) and Normal Control Aged below 40 years(NC).

	Lung cancer	AMC (age>40 years)	NC (age<40 years)
Number	9	9	12
Sex (M/F)	6 / 3	7 / 2 *	10 / 2
Age (years, Mean \pm SD)	63.4 \pm 10.6	61.8 \pm 8.4*	26.9 \pm 4.0
Smoker / Never Smoker	5 / 4	8 / 1*	2 / 10
Diseases	Squamous cell carcinoma : 6 Adenocarcinoma : 2 Non-small cell cancer: 1	Tuberculosis : 3 Other inflammation : 6	No known disease

* : No statistically significant difference between the lung cancer and AMC group.

원심 분리하여 단백질을 침전시켰다. 상층액 만을 취하여 새 eppendorf tube에 옮기고 2배 부피의 100% alcohol 880 μ L를 넣고 잘 흔들고 원심 분리하여 DNA 침전물을 얻었다. 70% ethanol 400 μ L로 염기를 제거하고 37°C heat block에서 5분간 건조한 다음 TE buffer 600 μ L로 녹였다. 분광광도계(spectrophotometer, Gene Quant II; Pharmacia Biotech)로 DNA 농도를 측정하고 PCR 용 DNA 용액 5 ng/ μ L 의 농도로 희석하여 중합효소연쇄반응법에 의한 유전자와 증폭에 사용하였다.

2) 혈장에서 DNA 추출

혈액에서 분리해 -70°C에 보관된 혈장 1 mL에 10% SDS 25 μ L, proteinase-K 10 mg/mL 10 μ L를 첨가하고 37°C 항온 수조에 넣고 16시간 이상 부치시킨 후, 페놀 용액(phenol: chloroform: isoamylalcohol 25:24:1)으로 DNA층을 얻었다. 여기에 100% 에탄올 800 μ L + 7.5M Ammonium acetate 100 μ L, 20 mg/ml glycogen 1 μ L을 첨가해 잘 흔든 후 -20°C에 부치 시키고 원심 분리하여 DNA 침전물을 얻었고 70% ethanol 400 μ L로 염기를 제거하였다⁷⁻¹¹. DNA 침전물을 건조한 다음 TE buffer 100 μ L를 넣고 녹여서 분광광도계(spectrophotometer, Gene Quant II; Pharmacia Biotech)로 DNA 농도를 측정하였다. 5 ng/ μ L 농도로 희석하여 중합효소연쇄반응법에 의한 유전자와 증폭에 사용하였다.

3. PCR과 MA 분석

폐암에서 MA가 흔히 발생하는 것으로 알려진 세 유전자와 D3S1300 (3p14.2, FHIT locus), D3S1234 (3p13-14) 그리고 D21S1245 (21q11-21)를 대상으로 검색하였다. 세개의 microsatellite 유전자와 증폭을 위한 각각의 primer는 GeneBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)로부터 염기 서열을 얻어서 Whitehead Institute for Biomedical Research의 web에 기반을 둔 primer 설계 프로그램 (http://www-genome.wi.mit.edu/cgi-bin/primer/primer3_www.cgi) 을 이용하여 설계하였으며 그 염기 서열은 D3S1300: forward:

5'- gcc ctc aga gag ctc aca tt -3', reverse: 5'- atg cca att ccc cag atg ta -3', D3S1234는 forward: 5'- cag gaa aat ccc ttg aac ca -3', reverse: 5'- gtt gtt gga gtg gga cca ag -3', 그리고 D21S1245는 forward: 5'- tga aaa aca gag aag gag gga at -3', reverse: 5'- tgg tga att cag ttt gct ggt -3'를 주문 제작하여 사용하였다.

1) 중합효소연쇄반응에 의한 유전자와 증폭(PCR)

1U의 Taq DNA polymerase (Super BIO, Suwon)와 함께 40 ng의 sample DNA, 800 μ M의 dNTP, 1 μ M 의 각각의 primer, 1.5 mM MgCl₂, 50 mM KCl으로 하여 총 반응액을 20 μ L 로 하였다. 세 쌍의 primer 모두 각각 94°C에서 30초간 denaturation, 57°C에서 30초간 annealing 그리고 72°C에서 30초 동안 extension하는 온도 순환을 Perkin Elmer 2400 thermal cycler로 40회 반복하였다.

2) 증폭된 DNA fragment 관찰

증폭산물은 2% agarose gel에 전기 영동시켜 확인한 후 6% polyacrylamide gel에서 다시 전기영동(40 Watt, 2시간, TBE buffer 0.5 x)하여 silver staining으로 MA 여부를 관찰하였다. Silver staining은 전기영동을 시킨 6% polyacrylamide gel의 DNA를 fix/stop (solution 500 mL당 50 mL; glacial acetic acid), staining (solution 500 mL당; 0.5g AgNO₃, 750 μ L 37% formamide), developer solution 500 mL당; 15g Na₂CO₃, 100 μ L Na₂S₂O₃-5H₂O, 750 μ L 37% formamide)의 세 단계 염색 방법이다. fix/stop solution에 6% polyacrylamide gel을 20분 동안 반응시킨 후 증류수로 2분씩 세 번 깨끗하게 씻어낸 다음 staining solution을 이용하여 30분 동안 반응시키고 위와 같이 증류수로 10초 정도 씻어내었다. 마지막으로 developer solution으로 증폭산물의 띠가 보일 때까지 반응시키고 띠가 진하게 보이면 처음 사용했던 fix/stop solution으로 고정 과정을 한번 더 시행하였다.

MA 여부는 loss of heterozygosity (LOH) 또는 band shift (BS)로 관찰되었는데, 띠가 없어져 백혈구 DNA에서는 보이지만 혈장 DNA에서는 관찰되지 않

는다거나(LOH), 띠의 길이가 달라서 백혈구에서 증폭 산물의 띠 위치보다 아래 또는 위에서 관찰되는 양상(BS)으로 관찰되었다.

4. 통계 분석

연속 변수는 평균 \pm 표준편차로 표현하였다. 통계 분석은 SPSS for Windows version 12.0(SPSS Inc, Chicago, IL)을 사용하였다.

결 과

MA는 LOH 또는 BS 양상으로 관찰되었으며, 세 가지 유전자좌중 D21S1245는 모두 LOH 양상이었고, D3S1300과 D3S1234는 LOH 또는 BS와 LOH 두 가지 형태의 조합으로 MA가 관찰되었다(Figure 1).

폐암을 갖고 있지 않은 정상인에서 연령의 증가에 따라 MA의 빈도가 높아지는지를 보고자 비폐암 대조군(AMC) 9례와 정상인(NC) 12례에서 연령에 따른 MA의 빈도를 비교하였다. D3S1300은 20례에서, D3S1234는 19례에서, 그리고 D21S1245는 15례에서 대립유전자(informative cases)를 관찰할 수 있었고

이들에서 MA 여부를 비교하였다. NC에서는 위의 세 가지 유전자좌 중 한가지에서도 MA가 관찰되지 않았으나 AMC에서는 88.9%(8/9)에서 최소한 한 가지 이상의 유전자좌에서 MA가 관찰되었다(Table 2).

비폐암 대조군(AMC) 9례와 40세 이하의 정상 대조군(NC) 12례를 대상으로 흡연력에 따라 흡연군(10례)과 비흡연군(11례)으로 나누어 MA 빈도를 비교하였다. 위의 세가지 유전자좌 중 한 가지에서라도 MA가 관찰된 경우는 흡연자들이 70%(7/10)를 보인 반면 비흡연자는 9.7%(1/11)에서만 관찰되어 흡연군에서 유의하게 높은 빈도를 보였다($p<0.05$, Table 3).

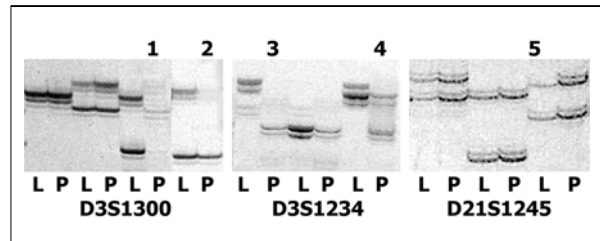


Figure 1. Microsatellite analyses of the paired leucocytes(L) and plasma(P) DNA from the non-small cell lung cancer patients. Note the allele loss (2, 5) and combination of band shift and allele loss(1, 3, 4) in the representative images of D3S1300, D3S1234 and D21S1245. (6% polyacrylamide gel, Silver stain)

Table 2. Comparison of the MAs between the Age Matched Control(AMC) and Normal Control(NC) Aged below 40 years.

Primer	Informative cases	No of MA	AMC (age>40years) N=9	NC (age<40years) N=12
D3S1300	20	3	3/8 (37.5%)	0/12 (0%)
D3S1234	19	5	5/9 (55.6%)	0/10 (0%)
D21S1245	15	3	3/4 (75%)	0/11 (0%)
Sum	21	8	8/9 (88.9%) [§]	0/12 (0%)

[§] : $p<0.05$

Table 3. Comparison of the MAs in the Age Matched Control(AMC) and Normal Control(NC) Aged below 40 years according to their Smoking History.

Primer	Informative cases	No of MA	Smokers (N=10)	Never smokers (N=11)
D3S1300	20	3	3/9 (33.3%)	0/11 (0 %)
D3S1234	19	5	4/10 (40 %)	1/9 (11.1%)
D21S1245	16	3	3/6 (50 %)	0/10 (0 %)
Sum	21	8	7/10 (70 %)	1/11 (9.7 %)*

*: $p<0.05$ between smokers and never smokers

Table 4. Comparison of MAs between the lung cancer and non-cancer Age Matched Control(AMC) group aged over 40.

Primer	Informative cases	No of MA	Lung cancer No (%) N=9	AMC No (%) N=9
D3S1300	17	8	5/9 (55.5%)	3/8 (37.5%)
D3S1234	15	9	4/6 (66.7%)	5/9 (55.6%)
D21S1245	9	6	3/5 (60%)	3/4 (75%)
Sum	18	14	6/9 (66.7%)	8/9 (88.9%) [†]

[†]: no statistically significant difference between the lung cancer and control group.

다음으로 폐암군(9례)과 이들과 연령과 흡연력이 비슷한 비폐암 대조군(9례) 간에 MA 빈도를 비교하였다. D3S1300 17례, D3S1234는 15례, 그리고 D21S1245는 9례에서 대립유전자를 관찰할 수 있어서 이들에게서 MA의 빈도를 비교하였다. 위의 세가지 유전자와 중한가지에서라도 MA가 관찰된 경우는 폐암군 66.7% (6/9), 비폐암군에서 88.9%(8/9)로서 양 군간에 MA의 빈도에는 차이가 없었다($p>0.05$, Table 4). 폐암 군에서 흡연 여부에 따라 MA의 빈도를 비교하였을 때, 흡연자 폐암에서 80%(4/5), 비흡연자 폐암에서 50%(2/4)로 유의한 차이는 관찰되지 않았다($p>0.05$).

고 찰

폐암은 흡연 인구의 증가와 대기 오염 등의 원인으로 우리 나라에서도 급속히 증가하고 있으며 암으로 인한 사망의 원인 질환들 중 가장 큰 비중을 차지하고 있다¹². 이러한 폐암의 발생빈도 및 폐암으로 인한 사망률의 증가는 현재의 흡연 실태로 보아 앞으로도 상당 기간 지속될 것으로 예상되나 대부분의 폐암이 진단 당시에 이미 제 3 병기 이상으로 진행된 상태로 진단되므로 완치가 어려운 경우들이 대부분이라는 문제가 있다¹³.

종양세포는 쉽게 고사(apoptosis)되거나 괴사(necrosis)되므로 파괴된 종양세포로부터 유출된 종양세포의 유전자가 혈액을 순환할 수 있다. 즉 혈액 중의 백혈구에는 개체가 고유하게 물려받은 유전자를 가지고 있지만, 혈청이나 혈장 속에 순환하는 유전자는 종양세포로부터 유래된 유전자일 수 있다.

Sozzi 등⁶은 1 병기에서 3 병기까지의 비소세포 폐

암 87례와 14례의 대조군을 이용하여 연구자의 같은 부위의 MA를 관찰하였는데 조직(56%)과 혈장(40%) 모두에서 MA를 관찰할 수 있었고 특히 제 1병기(43%)와 2 cm 이하의 종양을 가지고 있는 경우(45%)에서도 높은 빈도로 MA가 관찰되어 조기 진단의 지표로서의 가능성을 시사하였다.

그러나 본 연구에서 고령의 흡연자 대조 군에서도 폐암과 같은 높은 빈도의 MA가 관찰되므로 혈장 DNA를 이용한 MA 검사는 위 양성율이 높아서 폐암 진단을 위한 검사로는 적절하지 않음을 추정할 수 있다. 연구자의 성적과 달리 Sozzi 등의 보고들^{5,6}에서 MA가 대조 군에서는 관찰되지 않았는데, 이는 대조군의 흡연율과 연령이 폐암군보다 낮았기 때문에 MA가 상대적으로 낮게 관찰되어 특이도가 높은 결과를 얻었을 가능성이 있다.

다른 연구들^{14,15}에서도 혈장 DNA의 MA는 특이도가 높은 검사로 보고하고 있지만, Khan 등¹⁶은 86례의 폐암군과 연령과 흡연력이 비슷한 120례의 폐질환(만성 폐쇄성 폐질환, 기관지 확장증, 결핵 등) 환자들의 혈장 DNA의 MA를 비교하여 저자들의 연구와 같이 특이도가 높지 않음을 보고하고 있다. 즉 폐암에서 69%의 MA가 관찰되었으나 비폐암 대조군에서도 42%에서 관찰되어서 혈장 DNA의 MA는 특이도가 높지 않다는 점이다.

이상과 같이 MA가 고령의 흡연자에서 흔히 발견되는 소견이라면 흡연과 연령의 증가 중 어떠한 인자가 MA를 초래하는 주요 원인인지를 알아볼 필요가 있겠다. 그러나 본 연구에서 대조군 9례 중 1례를 제외하고는 모두 고령의 흡연자들이었고 40세 이상의 정상 대조군 12례는 2례를 제외하고는 모두 비흡연자들이

었기 때문에 양 대조군의 흡연과 연령 특성이 서로 상이하여 이 문제의 답을 얻을 수는 없다. 단지 폐암이 호발하는 고령의 대조군에서 폐암과 같이 높은 빈도로 MA가 발견되어서 연령 증가나 흡연에 따른 변화이거나 전암 또는 초기 암 병변이 있을 가능성을 추정할 수 있다. 즉, 비폐암 대조군을 다양한 연령층과 흡연력의 건강인들을 대상으로 MA의 빈도를 관찰해 비교해 보아야 할 것이며, MA를 보이는 대조군에서 폐암의 발생 위험도가 높은지를 추적 관찰할 필요가 있겠다.

본 연구에서는 비소세포 폐암 환자들만을 대상으로 하였으나 혈행성 전이가 호발하는 소세포 폐암에서도 높은 빈도의 MA를 보임이 인용된 대부분의 논문들에서 보고하고 있다. 따라서 향후에는 다양한 조직형들의 폐암 검체를 이용한 연구가 필요하겠고, 중앙 조직으로부터 추출한 DNA와 혈장 DNA의 MA 양상이 일치하는지를 검증하는 실험도 필요하겠다.

혈장 DNA로 MA를 관찰할 수도 있지만 최근에는 혈장 또는 혈청 DNA의 양을 정량적 PCR 법으로 측정하여 진단 및 예후 예측 인자로써 이용 가능성도 제시되고 있어서^{17,18} 혈장 또는 혈청 DNA의 정량적 분석도 추구되어야 할 과제이다.

결론적으로 혈장 DNA의 MA는 40세 이하의 정상인들에서는 발견되지 않았으며 폐암 환자들에서 높은 빈도로 발견되었다. 그러나 고령의 흡연자인 비폐암 대조군에서도 높은 빈도로 MA가 관찰되므로 폐암 조기진단의 지표로써는 적합하지 않을 것으로 예측된다.

요 약

폐암의 조기 진단을 위한 방법으로써 MA의 의의를 알아보고자 전남대학교 병원 내과에 내원한 폐암 환자 9례(squamous cell carcinoma 6례, adenocarcinoma 2례, non-small cell lung cancer: 1례), 연령이 비슷한 비폐암 대조군 9례(AMC, 결핵: 3례, 비특이적 염증성 폐질환: 6례)와 40세 이하 정상인 12례(NC)를 대상으로, 이들의 말초혈액의 백혈구와 혈장으로부터 DNA를 추출하여 D21S1245, D3S1300, D3S1234 유전자좌의 MA를 분석하였다.

세가지 유전자좌 중 어느 한 유전자좌에서라도 MA가 관찰되면 MA가 있는 것으로 인정하였다. MA는 NC에서는 관찰되지 않았으나 0%(0/12), AMC에서는 88.9%(8/9)에서 관찰되었다. AMC와 NC 총 21례 중 흡연자에서 70%(7/10) 비흡연자에서 9.1%(1/11) MA가 관찰되었다($p<0.05$). 폐암군과 AMC 총 18례 중 AMC에서 88.9%(8/9), 폐암군에서 66.7%(6/9)를 보여 양군간에 서로 차이 없이 모두 높은 빈도로 관찰되었다($p>0.05$).

결과적으로 혈장 DNA의 MA는 40세 이하의 정상인들에서는 발견되지 않으며 폐암 환자들에서 높은 빈도로 발견되었다. 그러나 고령의 흡연자들인 비폐암 대조군에서도 높은 빈도로 MA가 관찰되므로 폐암 조기진단의 지표로써는 적합하지 않을 것으로 예상된다. 그러나 본 연구는 소수의 한정된 대상을 이용한 결과로써 다양한 연령층과 흡연력 그리고 조직형에 따라 세분화된 더 큰 대상 군을 이용한 연구가 추구되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Chen XQ, Stroun M, Magnenat JL, Nicod LP, Kurt AM, Lyautey J, et al. Microsatellite alterations in plasma DNA of small cell lung cancer patients. *Nature Med* 1996;2:1033-5.
2. Shaw JA, Smith BM, Walsh T, Johnson S, Primrose L, Slade MJ, et al. Microsatellite alterations plasma DNA of primary breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2000;6:1119-24.
3. Moriyama H, Matsubara N, Kanbara T, Mori M, Matsuoka J, Yoshino T, et al. Allelic imbalance and microsatellite instability in plasma DNA released from polyclonal pancreatic adenocarcinoma. *Int J Oncol* 2002;21:949-56.
4. Goessl C, Heicappell R, Munker R, Anker P, Stroun M, Krause H, et al. Microsatellite analysis of plasma DNA from patients with clear cell renal carcinoma. *Cancer Res* 1998;58:4728-32.
5. Sozzi G, Conte D, Mariani L, Lo Vullo S, Roz L, Lombardo C, et al. Analysis of circulating tumor DNA in plasma at diagnosis and during follow-up of lung cancer patients. *Cancer Res* 2001;61:4675-8.
6. Sozzi G, Musso K, Ratcliffe C, Goldstraw P, Pierotti MA, Pastorino U. Detection of microsatellite alterations in plasma DNA of non-small cell lung cancer patients:

- a prospect for early diagnosis. *Clin Cancer Res* 1999;5:2689-92.
7. Jen J, Wu L, Sidransky D. An overview on the isolation and analysis of circulating tumor DNA in plasma and serum. *Ann N Y Acad Sci* 2000;906:8-12.
8. Usadel H, Brabender J, Danenberg KD, Jeronimo C, Harden S, Engles J, et al. Quantitative adenomatous polyposis coli promoter methylation analysis in tumor tissue, serum, and plasma DNA of patients with lung cancer. *Cancer Res* 2002;62:371-5.
9. Lichtenstein AV, Melkonyan HS, Tomei LD, Umansky SR. Circulating nucleic acids and apoptosis. *Ann N Y Acad Sci* 2001;945:239-49.
10. Lo YM. Circulating nucleic acids in plasma and serum: an overview. *Ann N Y Acad Sci* 2001;945:1-7.
11. Lee TH, Montalvo L, Chrebtow V, Busch MP. Quantitation of genomic DNA in plasma and serum samples: higher concentrations of genomic DNA found in serum than in plasma. *Transfusion* 2001;41:276-82.
12. Seo JH, Jeong CS. Death rate statistics of Korea, 2003: Korea National Statistical Office; 2004.
13. Kim HJ, Jeong MP, Heo DS, Bang YJ, Han SK, Shim YS, et al. Lung cancer in Korea(1980-1984). *Korean Journal of Internal Medicine* 1994;46:221-28.
14. Beau-Faller M, Gaub MP, Schneider A, Ducrocq X, Massard G, Gasser B, et al. Plasma DNA microsatellite panel as sensitive and tumor-specific marker in lung cancer patients. *Int J Cancer* 2003;105:361-70.
15. Andriani F, Conte D, Mastrangelo T, Leon M, Ratcliffe C, Roz L, et al. Detecting lung cancer in plasma with the use of multiple genetic markers. *Int J Cancer*. 2004;108:91-6.
16. Khan S, Coulson JM, Woll PJ. Genetic abnormalities in plasma DNA of patients with lung cancer and other respiratory diseases. *Int J Cancer*. 2004;110:891-5.
17. Sozzi G, Conte D, Leon M, Ciricione R, Roz L, Ratcliffe C, et al. Quantification of free circulating DNA as a diagnostic marker in lung cancer. *J Clin Oncol*. 2003;21:3902-8.
18. Gautschi O, Bigosch C, Huegli B, Jermann M, Marx A, Chasse E, et al. Circulating deoxyribonucleic Acid as prognostic marker in non-small-cell lung cancer patients undergoing chemotherapy. *J Clin Oncol*. 2004;22:4157-64.