

## 소아악성고형종의 진단에 있어서 chimeric transcript의 유용성

연세대학교 의과대학 소아외과

최 승 훈

= Abstract =

### Usefulness of Chimeric Transcript in the Diagnosis of Pediatric Solid Tumors

Seung Hoon Choi, M.D.

*Department of Surgery, Yonsei University College of Medicine,  
Seoul, Korea*

Pediatric solid tumors have many histologic similarity. These tumors contained small round cell types, and cause frequent diagnostic problems in pediatric pathology. An important advance in the differentiation of these small round cell tumors has been the identification of consistent chromosomal translocations associated with several types of tumors. Eighteen patients with soft tissue sarcoma were available for review. Seventeen cell lines were also included in this study. The RNA from the specimens were analyzed by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR). PAX3-FKHR fusion was present in four of five alveolar rhabdomyosarcoma and PAX7-FKHR fusion was detected in one of five alveolar rhabdomyosarcoma. None of the specimens expressed more than one chimeric transcript. EWS-FLI1 or EWS-ERG fusions were detected in all seven Ewings' sarcoma. No specimens showed EWS-WT1 fusion. These results corresponded well to the histopathologic diagnosis. There were no differences in the histologic appearances of tumors with the more frequent PAX3-FKHR or EWS-FLI1 fusions compared with those containing the variant PAX7-FKHR or EWS-ERG fusions. RT-PCR assay for chimeric transcript is a useful tool for rapid and objective diagnosis of pediatric solid tumors. Through these tools, we can approach genetically to the differential diagnosis of undifferentiated small round tumors.

**Index Words :** *Chimeric transcript, Pediatric solid tumor, Rhabdomyosarcoma, Lymphoma, Ewing's sarcoma, Wilms' tumor*

**Correspondence ;** Seung Hoon Choi, M.D., *Department of Surgery, Yonsei University College of Medicine, 146-92, Dogok-dong, Kangnam-Ku, Seoul 135-270, Korea*

본 논문은 1997년도 연세대학교 의과대학 교수연구비로 이루어졌음.

## 서 론

## 재료 및 방법

소아의 악성고형종은 소아에서 발생하는 전체 악성종양의 1/3을 차지할 뿐아니라 치료의 결과도 극히 불량하여 종래의 진단과 치료방법을 탈피하여 새로운 진단기술 및 치료법의 개발이 필요한 실정이다<sup>1</sup>. 성인의 악성종양이 식사, 오염, 흡연 등의 환경적인 요인에 의하여 발생하는 것이 많은 것에 비하여 소아의 악성고형종은 유전자이상을 동반하는 경우가 많아 유전자의 변이를 이용한 조기진단과 치료가 소아의 악성고형종의 치료성적을 향상시키기 위하여 필요하다.

소아의 악성고형종은 소세포암 (small round cell tumor)의 특성을 가지고 있으며 분화의 정도에 따라서 진단이 어려운 경우가 많아 보고에 따라서는 30 % 정도가 병리학자마다 진단이 다르다<sup>2</sup>. 정확한 진단은 추후 치료법의 선택에 중요하며 이것은 치료결과와 밀접하게 연관이 되므로 정확한 조직진단이 필요하다. 분화가 나쁘거나 서로 유사한 모양을 보이는 악성고형종에서는 조직학적 진단법에 덧붙여서 염색체전위를 이용한 분자생물학적인 분석을 하면 진단을 정확히 하는데 도움이 될 수 있다. 소아의 악성고형종중에는 폐포형형문근육종 (alveolar type)에서 t(2;13)(q35;q14)<sup>3</sup> 염색체전위와 t(1;13)(p36;q14)<sup>4</sup> 염색체전위가 일어나는 것을 이용하여 진단에 이용하는데 이는 태아형형문근육종 (embryonal type)과 그 외 소아 악성고형종과의 감별진단을 가능하게 하며 초기에 정확한 진단을 얻을 수 있으므로 이를 임상에 응용하는 것이 필요하다. 빌름즈종양에서는 t(1;16)(q21;q13)<sup>5</sup>이 소수이지만 하나 발견되는 것을 토대로 이의 임상적 유용성을 알아보고, t(11;22)(p13;q12)<sup>6</sup>가 나타날 가망성에 대해서도 조사할 필요가 있다. 유잉육종은 t(11;22) (q24;q12)와 t(21;22)(q22;q12)<sup>7</sup>가 흔히 일어나는 것을 이용하며, PNET (primitive peripheral neuroectodermal tumor), Askin tumor 등의 유잉육종에 속하는 종양에서도 이것을 검사하여 임상응용을 모색할 필요가 있다고 생각된다. 본 연구에서는 reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)으로 chimeric transcrip의 발현정도를 조사하여 그 임상적용의 유용성을 조사하였다.

검사대상은 연세대학교 의과대학 소아외과에서 계대배양중이거나 액체질소용액에 보관중인 세포주와 환자에서 적출한 종양으로 하였다. 이를 위하여 횡문근육종 세포주가 6개, 악성림프종 5개, 유잉육종 4개, 빌름즈종양 2개 등의 세포주를 이용하였고 세포주는 RPMI 1640에 10 % fetal bovine serum, L-glutamine, penicillin, streptomycin을 첨가한 배양액에서 37℃, 5 % CO<sub>2</sub>에 계대배양하였다. 적출한 종양조직은 원칙적으로 수술전 화학요법 등의 치료를 받지 않은 환자들을 대상으로 하며 수술시 얻은 종양조직을 급속냉동시켜 이송하였고, 수집된 종양은 즉시 2 mm 두께로 절단하여 Dulbecco's Modified Eagle Medium과 7.5 %의 dimethyl sulfoxide에 담귀서 액체질소에 보관하였다. 검사된 조직은 횡문근육종 7개, 악성림프종 3개, 유잉육종 3개, 빌름즈종양 5개였으며 각 종양조직에 대하여는 성별, 연령, 병원등록번호 등의 인적사항과 함께 수술명, 수술소견, 조직형과 병기, 수술 후의 약물요법, 추적 검사 등을 기록하여 보관하였다. 이후의 조직처리는 번호화하여 주관적인 편견이 생기는 것을 방지하였다. 해부병리에서 진단을 내린 슬라이드는 적어도 2인 이상의 다른 병리전문가에게 조직진단을 받았고 이 경우, 환자의 성별, 연령이나 최초 진단, 임상 증세, 유전적 검사 결과는 공개되지 않게 하였다.

Total RNA 는 AGPC 방법<sup>8</sup>으로 세포주와 종양 조직에서 추출하고 100 µg의 total RNA를 AMV reverse transcriptase와 PCR 완충제, 4 mM dNTP, 50 pmole의 anti-sense primer에서 45분간 반응시켜 cDNA를 만들었다. 각각의 유전자 전위를 검사하기 위해서 각자에 맞는 PCR primer를 넣어 각 primer에 해당하는 PCR product를 생성하였다(표 1). PCR은 Perkin-Elmer-Cetus의 thermal cycler를 이용하여 시행하였으며 기본적인 조건은 94℃ 4분 후 denaturation 94℃ 1분, annealing 55℃ 1분, extension 72℃ 1분으로 35회 반복하여 최종 extension은 72℃에서 7분간 시행하였는데 primer의 종류와 크기에 따라 annealing, extension의 온도와 시간, PCR 횟수 등을 조절하였다. PCR product는 3

**Table 1.** Oligonucleotide Primers Used in Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction Assays

Primer	Sequence
5' PAX3	GCACTGTACACCAAAGCACG
5' PAX7	TTTGAGAGGACCCACTACCC
5' FKHR	GCAGATCTACGAGTGGATGG
3' FKHR	AACTGTGATCCAGGGCTGTC
5' EWS-A	TCCTACAGCCAAGCTCCAAGTC
5' EWS-B	TCCTACATGCCAAGCTCCAAG
3' FLI1	ACTCCCCGTTGGTCCCCTCC
3' ERG	ACTCCCCGTTGGTGCCCTCC
3' WT1	CAGCTGGAGTTTGGTTCATG
5' $\beta$ actin	CTGTCTGGCGGCACCACCAT
3' $\beta$ actin	GCAACTAAGTCATCATAGTCCGC

% agarose gel에서 전기영동 하였고 ethidium bromide로 착색하고 자외선하에서 관찰하고 사진촬영을 시행하였다. internal control을 위하여는  $\beta$ -actin을 사용하였다<sup>6</sup>. 본 연구를 위하여 사용한 primer의 염기서열은 표 1과 같았고 유전자 전위를 검사하기 위한 chimeric product는 표 2와 같았다.

횡문근육종에서는 폐포형횡문근육종에서 t(2;13)(q35;q14)<sup>3</sup> 염색체전위와 t(1;13)(p36;q14)<sup>4</sup> 염색체전위가 일어나는 것을 PAX3-FKHR과 PAX7-FKHR chimeric transcript로 조사하였고 빌름즈종양에서는 t(11;22)(p13;q12)<sup>6</sup>의 빈도를 EWS-WT1을 이용하여 조사하였으며 유잉육종은 t(11;22)(q24;q12)와 t(21;22)(q22;q12)<sup>7</sup>을 EWS-FLI1과 EWS-ERG를 이용하여 조사하였다(표 2, 3).

## 결 과

검사에 사용한 세포주는 17개였으며 환자에서 적출한 종양조직은 18개였다. 이들은 모두 AGPC 방법으로 RNA를 추출하고 cDNA를 만들어 RT-PCR을 시행하였다. cDNA의 상태를 보기위하여  $\beta$ -actin과 FKHR의 primer를 이용하여 검사하였다.  $\beta$ -actin과 FKHR의 band가 뚜렷히 나오는 검체에 한하여 RT-PCR을 시행하였는데, 이것은 PCR에서 증폭된 RNA가 있음을 보이는 것으로 전례에서 좋은 band를 얻을 수 있었다. 폐포형횡문근육종에서 보이는 PAX3-FKHR 전위는 세포주 2개와 종양조직 2개 등 4개에서 볼수 있었고 PAX7-FKHR 전위

**Table 2.** Cytogenetic Translocations and Their Corresponding Chimeric Products

Translocation	Chimeric Product
t(2;13)(q35;q14) <sup>14</sup>	PAX3-FKHR
t(1;13)(p36;q14) <sup>4</sup>	PAX7-FKHR
t(11;22)(q24;q12) <sup>23</sup>	EWS-FLI1
t(21;22)(q22;q12) <sup>24</sup>	EWS-ERG
t(11;22)(p13;q12) <sup>25</sup>	EWS-WT1

**Table 3.** Chromosomal Translocations in Small Round Cell Tumors

Tumor	Translocation	Chimeric Products	Reference
Alveolar rhabdomyosarcoma	t(2;13)(q35;q14)	PAX3-FKHR	12,14
	t(1;13)(p36;q14)	PAX7-FKHR	4
Ewings' sarcoma	t(11;22)(q24;q12)	EWS-FLI1	7,11
	t(21;22)(q22;q12)	EWS-ERG	19,24
Desmoplastic small round cell tumor	t(11;22)(p13;q12)	EWS-WT1	25

**Table 4.** RT-PCR and Histopathologic Results

RT-PCR	Histopathologic Results											
	ARMS		ERMS		Ewing		WT		Lymphoma		Total	
	Cell	Tumor	Cell	Tumor	Cell	Tumor	Cell	Tumor	Cell	Tumor	Cell	Tumor
PAX3-FKHR	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
PAX7-FKHR	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
EWS-WT1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EWS-FLI1	0	0	0	0	3	3	0	0	0	0	3	3
EWS-ERG	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Negative	0	0	4	4	0	0	2	5	5	3	11	12
Total	2	3	4	4	4	3	2	5	5	3	17	18

Abbreviation, cell: preserved known cell-line, tumor: tumor specimen from patients, ARMS: alveolar rhabdomyosarcoma, ERMS: embryonal rhabdomyosarcoma, WT: Wilms' tumor

가 종양조직 1개에서 볼 수 있었다. 유잉육종의 감별진단에 유용한 EWS-FLI1 전위는 세포주 3개와 종양조직 3개등 모두 6개, EWS-ERG 전위는 세포주 1개에서 검출되었다. 검사대상 중 2개 이상의 전위를 보이는 경우는 없었다(표 4).

검사 대상으로 사용한 세포주 중 6개의 횡문근육종은 2개가 병리적으로 폐포형횡문근육종이었으며 4개는 태아형횡문근육종이었다. RT-PCR로 확인한 결과 폐포형횡문근육종은 PAX3-FKHR 전위가 2개 모두에서 볼 수 있었다. 환자에서 얻은 조직은 횡문근육종이 7개 있었는데 병리검사상 3개가 폐포형횡문근육종이었고 4개는 태아형횡문근육종이었다. RT-PCR에서 폐포형횡문근육종은 PAX3-FKHR 전위가 2개에서 있었고 PAX7-FKHR 전위

가 1개에서 있었다(표 5). 그러나 태아형횡문근육종에서는 PAX3-FKHR 이나 PAX7-FKHR을 볼수 없어 이러한 전위가 폐포형횡문근육종을 감별진단 하는데 유용하였다.

유잉종양은 세포주가 4개였고 환자의 종양이 3개였는데 세포주 3개와 종양 3개 모두에서 EWS-FLI1 전위를 볼 수 있었고 세포주 1개에서 EWS-ERG 전위를 볼 수 있어 EWS-FLI1 전위와 EWS-ERG 전위가 유잉종양을 감별진단하는데 유용함을 알 수 있었다(표 6).

빌름즈종양의 세포주 2개와 종양 5개, 악성림프종 세포주 5개와 종양 3개에서는 검사에 사용된 전위가 모두 검출되지 않았으며 따라서 EWS-WT1 전위는 빌름즈종양의 진단에는 도움이 되지 않음

**Table 5.** PCR Assay for PAX3-FKHR Fusion

Cell Line	Histologic Diagnosis	PAX3-FKHR
SJRH3	Alveolar rhabdomyosarcoma	+
SJRH18	Alveolar rhabdomyosarcoma	+
RD	Embryonal rhabdomyosarcoma	-
A-673	Embryonal rhabdomyosarcoma	-
KYM-1	Embryonal rhabdomyosarcoma	-
SCMC-RM2	Embryonal rhabdomyosarcoma	-

**Table 6.** PCR Assay for Chimeric mRNA in Ewing's Sarcoma

Cell Line	Chimeric mRNA	
	EWS-FLI1	EWS-ERG
SCMC-ES1	-	+
ES-1-OT	+	-
EW-1	+	-
T50	+	-

을 알 수 있었다.

폐포형횡문근육종으로 진단된 3개의 환자조직에서 2개는 PAX3-FKHR 전위를 1개는 PAX7-FKHR 전위를 보였는데 이들 사이에 조직의 분화 정도나 환자의 연령, 성별, 병기에 대한 차이는 없었다. 유잉육종에서 4개의 세포주 중에서 3개가 EWS-FLI1 전위를 보였고 1개는 EWS-ERG 전위를 보였는데 이들 간에도 분화 정도나 증식 속도에 대한 차이는 없었다.

## 고 찰

소아악성종양중에서 신경모세포종, 횡문근육종, 유잉육종, 악성림프종, 비름즈종양은 소세포암 (small round cell tumor)이라는 병리조직학적 공통점을 가지고 있다. 따라서 조직의 분화가 나쁜 경우에는 원인이 되는 질환을 진단하기 어려워 향후 치료에 지장을 초래할 수 있다. 일반적으로 분화가 나쁜 종양이 빨리 진행되며 화학요법에 반응도 좋지 때문에 이러한 종양에서 정확한 진단은 환자의 장기생존에 직접적으로 작용한다. 면역조직화학적 진단은 분화가 나쁜 소아악성종양의 감별진단에 많은 도움을 줄 수 있으나 이것도 이상항체 (aberrant antigen)의 발현이 있는 경우나 면역조직화화적인 세포분화가 없는 경우에는 도움을 받을 수 없는 약점이 있다. 본 연구에서는 특정한 종양에서 발현되는 전위를 이용한 진단법의 정립을 위하여 reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR)으로 chimeric transcript의 발현정도를 조사하고 이를 기초로 임상적용의 유용성을 조사하였다. 정상인에서는 이러한 악성종양에서 보이는 염색체전위가 전혀 없기 때문에 염색체전위가 있을 경우에는 정확하게 진단할 수 있다. RT-PCR의 적용은 매우 적은 양의 조직으로도 진단이 가능하며 24시간내에 결과를 얻을 수 있다는 장점이 있고 southern blot 방법에 비해서도 훨씬 정확한 방법이라는 보고가 많다<sup>9</sup>. 염색체 검사 방법은 시간이 많이 걸릴 뿐 아니라 HSR, DMs 등에 의하여 해석이 어려우며 여러 가지 이상이 동시 다발적으로 발견되나, 유전자 전위를 이용한 진단방법은 감수성이 매우 높은 방법이며 기술적으로도 성공률이 높은 방법이다<sup>8</sup>. 조직학적 진단은 조직학적인

양상이 임상경과와 밀접한 관련이 있음에 기초한 것이고, 유전자를 이용한 진단은 유전자 이상이 임상경과와 관련이 있을 것이라는 가정에 기초한 것으로 두가지의 다른 진단방법이 임상경과를 어느 정도 예측할 수 있다<sup>1</sup>. 두가지 다른 진단방법을 모두 동원하여 사용할 경우에는 두가지가 서로 보완할 수 있어 한가지 방법만을 이용하였을 경우보다 훨씬 정확도가 높다. 기존의 조직학적 진단이 유전자 전위를 이용한 진단과 다르게 나올 경우에는 조직학적 진단을 재검토하여 진단을 정정하거나, 아직 잘 모르고 있던 새로운 사실을 발견할 수 있을 것으로 기대된다. 유전자전위를 이용하여 진단을 함으로써 조직학적 진단 이외의 방법을 개발하여 진단의 정확도를 높이고 적은 표본에서 신속하게 진단을 내릴 수 있는 장점이 있다.

횡문근육종은 소아에서 발생하는 육종 중 2/3가량을 차지하는 가장 흔한 질환으로 과거 20여 년간 생존율에 괄목한 향상을 가져왔다. 제 3차 Intergroup 횡문근육종 조사에서는 vincristine과 dactinomycin, cyclophosphamide를 사용하여 5년생존율이 65%에 이르게 되었다. 여기에는 조직형과 병변장소에 따른 치료약제의 선택이 매우 중요함을 보였다<sup>10</sup>. 횡문근육종의 감별진단으로 사용한 PAX3-FKHR 염색체전위와 PAX7-FKHR 염색체전위는 폐포형횡문근육종과 태아형횡문근육종의 감별진단에 탁월함을 보였다. 폐포형횡문근육종을 보였던 2개의 세포주와 3개의 종양조직에서 모두 염색체전위가 나타났으며 태아형횡문근육종인 4개의 세포주와 4개의 종양조직에서는 염색체전위가 나타나지 않았다. 폐포형횡문근육종이었던 3개의 종양에서 PAX3-FKHR 전위를 보였던 2개와 PAX7-FKHR 전위를 보였던 1개 사이에는 조직의 분화 정도나 환자의 연령, 성별, 병기에 대한 차이는 없었다. 따라서 전위의 종류에 따른 분화도는 더 많은 증례를 조사한 후나 결론지을 수 있을 것으로 사료된다. 본 검사에서 7개의 횡문근육종중 3개가 폐포형횡문근육종이었는데 이는 다른 보고가 19%정도인 것에 비하여 높았으나 특별한 의의는 없었다<sup>11</sup>. PAX3-FKHR 전위를 보였던 폐포형횡문근육종인 환자의 임상경과를 관찰하여 진단시 골수전이 등이 있는 경우가 많아 평균 생존기간이 6개월에 불과하다는 보고도 있다<sup>12</sup>. PAX3-FKHR 전

위는 유잉육종의 EWS-FLI1 전위나 myxoid 지방 육종의 t(12;16) 전위와 마찬가지로 종양유발을 일으키며 PAX7-FKHR 전위는 전환능력(transforming activity)이 있다<sup>2,13-15</sup>.

유잉육종은 소아에서 발생하는 골종양의 30 %를 차지하는 것으로 흉곽에 발생하는 소세포암인 Askin tumor와 PNET가 같은 질환으로 분류되어 Ewing family로 나뉜다<sup>5</sup>. 이들 종양세포는 조직학적으로 낮은 mitotic index를 보임에도 임상적으로는 매우 빠른 진행을 보이며, 다른 소아암과는 달리 35 % 정도의 유잉육종에서 세포내 glycogen을 보이지 않아 진단에 도움이 된다<sup>15</sup>. MIC2p 항원은 이 질환을 면역조직화학적으로 진단하는데 매우 유용하나 다수에서 발현되지 않는 단점이 있다<sup>16</sup>. 본 연구에서 사용된 FLI1 유전자와 ERG 유전자는 ets family에 속하는 전환능력을 가진 암유전자이며<sup>17</sup> EWS-FLI1 단백질은 NIH3T3 세포를 변환시키는 것으로 알려졌다<sup>18</sup>. EWS-FLI1 chimeric mRNA는 유잉육종의 88.9 %에서 발견되며 EWS-ERG mRNA는 9.3 %에서 발견된다고 보고되는데<sup>19</sup>, 본 연구에서는 세포주는 4개 중 3개가 종양은 3개 모두 EWS-FLI1 전위를 보였다. 감별진단이 어려운 소세포암에서 유전자형에 따른 분류가 유잉육종에서는 가능하며, PCR방법이 감수성과 특이성이 높기 때문에 미세 전이와 잔존종양의 진단에도 매우 유용한 방법이다.

빌름즈종양에서는 t(1;16)(q21;q13)<sup>5</sup>와 t(11;22)(p13;q12)<sup>6</sup>가 나타날 가능성이 있어 EWS-WT1 전위를 검사하였으나 2개의 세포주와 5개의 종양에서 한례도 발현되지 않았다. 이것은 desmoplastic small round cell tumor에서는 전례에서 나타난다는 보고가 있으나 빌름즈종양과는 연관이 없는 것으로 밝혀졌다<sup>1</sup>. WT1 유전자는 빌름즈종양의 암억제유전자로 알려져 있고 이것은 zinc-finger transcription factor를 생성하는데 관여하여 다수의 증식유전자와 세포증식을 억제한다<sup>20</sup>. 이 유전자는 신장의 발생에 관여할 뿐 아니라 증식, 분화와 세포소멸과정에 작용하며 신장암과 빌름즈종양의 발생에 중요한 역할을 한다<sup>21</sup>. WT1 유전자의 전위를 이용한 빌름즈종양의 진단도 곧 실용화할 것으로 예측된다.

신경모세포종에서는 아직 염색체전위를 이용한 진단이 실용화 되어있지 않은 실정이나 t(1;17)(p36;q12-21)<sup>22</sup> 전위가 나타나는 것을 이용하여 임

상적인 적용을 시도할 수 있다. t(1;17)(p36;q12-21) 전위가 나타나는 종양을 가진 환자의 임상적 특성과 핵산배열을 이용하여 RT-PCR의 primer를 제작하고 효용성을 검토하여 진단에 적용할 수 있다. desmoplastic small round cell tumor에서는 t(11;22)(p13;q12)가 보이는 것을 이용하여 RT-PCR을 이용한 확진이 가능하다<sup>1</sup>. 성인에서 발생하는 악성종양은 흡연, 음주, 식사, 환경오염 등 주변환경에 영향을 많이 받는 반면에 소아의 악성종양은 어린시절에 발생하여 주변환경에 의한 영향보다는 유전적 이상에 더 많은 영향을 받는다. 이러한 소아의 악성종양에서 어른에 비하여 유전자 이상이 흔히 보이며 이를 이용한 진단과 치료가 임상에 적용되면 기존에 방법과 병용하면 일부 종양의 감별진단에 매우 유용한 방법이 될 것으로 사료된다.

## 결 론

18개의 종양조직과 17개의 세포주를 대상으로 유전자전위를 조사하여 임상적 유용성을 검토하였다. 횡문근육종으로 진단되었던 13개에서는 폐포형 횡문근육종의 4개가 PAX3-FKHR 전위를 보였고 1개가 PAX7-FKHR 전위를 보인 반면 태아형횡문근육종 8개에서는 한례도 전위를 보이지 않아 PAX3-FKHR, PAX7-FKHR 전위가 폐포형횡문근육종을 감별진단하는데 유용함을 보였다. PAX3-FKHR 전위가 있었던 군과 PAX7-FKHR 전위를 보였던 군 간에는 조직의 분화정도나 환자의 연령, 성별, 병기에 대한 차이는 없었다. 유잉육종으로 진단되었던 7개에서는 6개가 EWS-FLI1 전위를 1개가 EWS-ERG 전위를 보여 이러한 chimeric transcript가 유잉육종의 진단에 유용함을 보였다. 단 횡문근육종과 마찬가지로 EWS-FLI1 전위가 있었던 군과 EWS-ERG 전위가 있었던 군 간에는 조직의 분화정도나 환자의 연령, 성별, 병기에 대한 차이는 없었다. 7개의 빌름즈종양과 8개의 악성림프종에서는 검사에 사용하였던 전위가 보이지 않았다. 이러한 결과로 보아 유전자전위를 이용한 진단법은 소아 악성고형종의 감별진단에 유용하며, 기존의 병리조직학적 진단과 병용하여 진단의 정확성을 높힐 수 있고 시료부족 등으로 진단에 어려움을 겪는 환자에서도 유용할 것으로 사료되었다.

## 참 고 문 헌

1. Barr FG, Chatten J, D'Cruz CM, Wilson AE, Nauta LE, Nycum LM, Biegel JA, Bomer RB: Molecular assays for chromosomal translocations in the diagnosis of pediatric soft tissue sarcomas. *JAMA* 15:553-557, 1995
2. Kissane JM, Askin FB, foulkes M, Stratton LB, Shirley SF: Ewing's sarcoma of bone: clinicopathologic aspects of 303 cases from the Intergroup Ewing's sarcoma study. *Hum Pathol* 14:773-779, 1983
3. Barr RG, Holick J, Nycum L Biegel JA, Emanuel BS: Localization of the t(2:13) breakpoint of alveolar rhabdomyosarcoma on a physical map of chromosome 2. *Genomics* 13:1150-1156, 1992
4. Davis RJ, D'cruz CM, Lovell MA, Biegel JA Barr FG: Fusion of PAX7 to FKHR by the variant t(1;13)(p36;q14) translocation in alveolar rhabdomyosarcoma. *Cancer Res* 54:2869-2872, 1994
5. Mathew P, Douglass EC, Jones D, Valentine M, Valentine V, Rowe S, Shapiro DN: Der (16)(q21;q13) in Wilms' tumor: friend or foe. *Med Pediatr Oncol* 27:3-7, 1996
6. Sawyer JR, Tryka AF, Lewis JM: A novel reciprocal chromosome translocation t(11;22)(p13;q12) in an intraabdominal desmoplastic small round-cell tumor *Am J Surg Pathol* 16:411-416, 1992
7. Delattre O, Zucman J, Melot T, Garau XS, Zucker JM, Lenoir GM, Ambros PF, Sheer D, Turc-Carel C, Triche T, Aurias A, Thomas G: The Ewing family of tumor-a subgroup of small round cell tumors defined by specific chimeric transcripts. *N Engl J Med* 331:294-299, 1994
8. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T: Molecular cloning: a laboratory manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.. 1989
9. Suzuki Y, Sekiya T, Hayashi K: Allele-specific polymerase chain reaction: a method for amplification and sequence determination of a single component among a mixture of sequence variants. *Anal Biochem* 192:82-84, 1991
10. Crist W, Gehan EA, Ragab AH, Dickman PS, Donaldson SS, Fryer C, Hammond D, Hays DM, Herrmann HJ, Heyn R, Jones PM, Lawrence W, Newton W, Ortega J, Raney B, Ruyman FB, Tefft M, Webber B, Wiener E, Wharam M, Vietti TJ, Maurer HM: The third intergroup rhabdomyosarcoma study. *J Clin Oncol* 13:610-630, 1995
11. Maurer HM, Moon T, Donaldson M: The intergroup rhabdomyosarcoma study: a preliminary report. *Cancer* 40:2015-2026, 1977
12. Douglass EC, Shapiro DN, Valentine M, Rowe ST, Carroll AJ, Raney RB, Ragab AH, Abella SM, Parham DM: Alveolar rhabdomyosarcoma with the t(2;13) cytogenetic findings and clinicopathologic correlations. *Med Pediatr Oncol* 21:83-887, 1993
13. Pani L, Overdier DG, Porcella A, Qien X, Lai E, Costa RH: Hepatocyte nuclear factor 3 $\beta$  contains two transcriptional activation domains, one of which is novel and conserved with the Drosophila fork head protein. *Mol Cell Biol* 12:3723-3732, 1992
14. Galili N, Davis JR, Frederick WJ, Mukhopadhyay S, Rauscher FJ, Emanuel BS, Rovera G, Barr FG: Fusion of a fork head domain gene to PAX3 in the solid tumor alveolar rhabdomyosarcoma. *Nature Genet* 5:230-235, 1993
15. Bennicelli JL, Frederick WJ, Wilson RB, Rauscher FJ, Barr FG: Wild type PAX3 protein and the PAX3-FKHR fusion protein of alveolar rhabdomyosarcoma contain potent, structurally distinct transcriptional activation domains. *Oncogene* 11:119-130, 1995
16. Ambros IM, Ambros PF, Strehl S, Kovar H,



- Gadner H, Salzer-Kuntschik M: MIC2 is a specific marker for Ewing's sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumors. *Cancer* 67: 1886-1893, 1991
17. Prasad DDK, Rao VN, Reddy ESP: Structure and expression of human FLI1 gene. *Cancer Res* 52:5833-5837, 1992
18. May WA, Lessnick SL, Braun BS, Klemsz M, Lewis BC, Lunsford LB, Hromas R, Denny CT: The Ewing's sarcoma EWS/FLI1 fusion gene encodes a more potent transcriptional activator and is a more powerful transforming gene than FLI-1. *Mol Cell Biol* 13:7393-7398, 1993b
19. Zucman J, Melot T, Desmaze C, Ghysdael J, Plougastel B, Peter M, Zucker JM, Triche TJ, Sheer D, Turc-Carel C, Ambros P, Combaret V, Lenoir G, Aurias A, Thomas G, Delattre O: Combination generation of variable fusion proteins in the Ewing family of tumors. *EMBO J* 12:4481- 4487, 1993b
20. Guan LS, Liu JJ, Xu YH, Wang ZY: A point mutation within exon 5 of the WT1 gene of a sporadic unilateral Wilms' tumor alters gene function. *Cancer Res* 58(18):4180-4184, 1998
21. Menke AL, van der EB AJ, Jochemsen AG: The Wilms' tumor 1 gene; Oncogene or tumor suppressor gene? *Inter Rev Cytol* 181: 151-212, 1998
22. Van Roy N, Cheng NC, Laureys G, Opdenakker G, Versteeg R, Speleman F: Molecular cytogenetic analysis of 1; 17 translocations in neuroblastoma. *Europ J Cancer* 31A:530-535, 1995
23. Delattre O, Zucman J, Plougastel B, Desmaze C, Melot T, Peter M, Kovar H, Joubert I, de Jong P, Rouleau G: Gene fusion with an ETS-DNA binding domain caused by chromosome translocation in human tumours. *Nature* 359:162-165, 1992
24. Giovannini M, Biegel JA, Serra M, Wang JY, Wei YH, Nycum L, Emanuel BS, Evans GA: EWS-ERG and EWS-FLI1 fusion transcripts in Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumors with variant translocations. *J Clin Invest* 94:489-496, 1994
25. Sawyer JR, Tryka AF, Lewis JM: A novel reciprocal chromosome translocation t(11;22) (p13;q12) in an intraabdominal desmoplastic small round-cell tumor. *Am J Surg Pathol* 16: 411-416, 1992