

현미부수체 불안정성을 동반한 위암에서 *Chk1* 유전자의 돌연변이

가톨릭대학교 의과대학 병리학교실,¹외과학교실

이종훈 · 조용구 · 송재휘 · 박조현¹ · 김수영 · 남석우 · 이석형 · 유남진 · 이정용 · 박원상

목적: *Chk1* kinase는 세포 내 DNA 손상에 따른 세포주기의 저지에 관여하며 G2/M checkpoint에서 중요한 역할을 한다. 연구자들은 위암에서 현미부수체 불안정성과 *Chk1* 유전자의 격자이동 돌연변이와의 연관성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법: 95예의 위암조직에서 레이저를 이용하여 정상과 암세포를 미세절제한 다음 6개의 현미부수체 표식자를 이용하여 현미부수체 불안정성을 조사하였다. 현미부수체 불안정이 있는 예에서 single strand conformational polymorphism과 염기서열 분석으로 *Chk1* 유전자의 격자이동 돌연변이를 조사하였다.

결과: 현미부수체 불안정성은 95예의 위암 중 19예 (20%)에서 발견되었는데 고빈도와 저빈도의 현미부수체 불안정성은 각각 13예와 6예였다. 고빈도의 현미부수체 불안정성이 있는 13예 중 2예에서 *Chk1* 유전자의 격자이동 돌연변이가 발견되었는데 이는 아미노산의 격자이동으로 truncated 단백을 형성하였다.

결론: 이러한 결과는 현미부수체 불안정성은 *Chk1* 유전자의 격자이동 돌연변이를 유도하여 세포주기 조절 기능을 상실하게 함으로써 위암의 발생에 관여한다는 것을 의미한다.

중심 단어: 위암, 현미 부수체 불안정성, 돌연변이, 세포주기

서 론

최근 분자생물학의 발달로 위암의 발생과 진행에 관련된 발암유전자, 종양억제유전자, 세포자멸사(apoptosis) 관련 유전자, 그리고 유착 분자(adhesion molecule)들이 발견되었고 이들의 역할과 기전을 밝히기 위한 많은 연구들이 진행되고 있다. 이러한 연구 결과에 의하면 인체 암의 발생은 종양유전자의 활성화와 종양억제유전자의 불활성화를 포

함하는 복합된 다단계 과정으로 여겨지고 있다.(1) 이 중 암 세포에서 발견되는 종양억제유전자의 주된 불활성화 기전은 대립형질의 소실, 돌연변이 그리고 촉진자(promotor) 부위의 메틸화 현상에 의한 것으로 밝혀지고 있다.(2) 암 세포에서 흔히 발견되는 염색체 소실 부위에는 암의 발생 및 진행에 관여하는 종양억제유전자가 존재한다고 밝혀져 있으며 소실 부위에서 다양한 종양억제 유전자들이 클로닝되었다.(3-9) 종양유전자나 종양억제유전자는 특정 세포의 증식을 직접적으로 조절하므로 gatekeeper 유전자로 불리며, 세포의 증식과 직접적인 연관성은 없으나 gatekeeper 유전자를 포함한 모든 유전자의 돌연변이나 현미부수체 불안정성을 증가시키는 유전자들은 caretaker 유전자로 명명된다.

Caretaker 유전자의 기능 소실로 발생하는 현미부수체 불안정성(microsatellite instability)은 유전자내의 특정 부위에 1~2개의 동일한 뉴클레오타이드가 결손되거나 추가되는 현상이다. 야생형(wild-type)의 부정합 교정 유전자(mismatch repair gene)들을 가진 세포에서는 결손이나 추가된 뉴클레오타이드가 정상으로 교정되거나 메틸화 등으로 부정합 교정 유전자들의 기능 소실이 있는 경우는 불안정성을 가진 DNA가 계속 세포 내에 축적되어 현미부수체 불안정성이 유발된다.(10) 부정합 교정과 관련된 유전자로는 *hMSH2*, *hMLH1*, *hMSH6*, *hPMS1*, *hPMS2* 등이 알려져 있으며 현미부수체 불안정성이 있는 대장암을 비롯한 여러 인체 고형암에서 이들 유전자들의 변이와 메틸화가 발견되고 있다.(11, 12) 흥미롭게도 *hMSH2*와 *hMLH1* 유전자의 경우는 주로 돌연변이로 불활성화되어 DNA에 부정합이 발생하며 *hMLH1*은 촉진자의 메틸화가 주된 부정합의 원인으로 밝혀지고 있다.(13) 이러한 유전자들의 기능 소실로 세포에서 나타나는 표현형인 현미부수체 불안정성은 위암을 비롯한 대장암, 자궁내막암 등에서 발견되고 있으며 위암에서는 약 10~44%에서 발견되고 있어,(14-16) 현미부수체 불안정성은 위암의 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

일반적으로 세포 내의 DNA가 손상을 받거나 복제가 억제되면 세포는 세포주기의 진행을 저지하고 손상된 DNA를 교정할 수 있는 신호전달계를 활성화시키고 게놈의 안정성을 유지하려고 한다.(17,18) 세포 내 DNA 손상이 있는 경우 ATM 혹은 ATR 유전자에 의해 활성화되는 *Chk1* 유전자는 Cdc25A와 Cdc25C phosphatase를 억제함으로써 S 세포주기

책임저자: 박원상, 서울시 서초구 반포동 505번지
가톨릭대학교 의과대학 병리학교실, 137-701
Tel: 02-590-1192, Fax: 02-537-6586
E-mail: wonsang@catholic.ac.kr

접수일 : 2005년 9월 16일, 게재승인일 : 2005년 9월 27일
본 연구는 한국과학재단 기초과학연구센터사업지원으로 수행되었음(R13-2002-005-01004-0).

에서 G2 로의 진행을 저지하여 세포주기 G2/M 단계에서 checkpoint로 작용하는 중요한 kinase 중의 하나로 알려져 있다.(19,20) 이러한 *Chk1* 유전자의 엑손 7에는 adenine이 9 번 반복되는 염기서열 poly A(9)이 존재하고 있어 격자이동(frameshift) 돌연변이가 비교적 쉽게 일어날 수 있는데, *Chk1* 유전자의 poly. A(9) 부위의 격자이동 돌연변이가 대장암과 자궁암의 현미부수체 불안정성을 가진 예에서 발생한다는 것이 보고되었다.(21)

위 점막 세포는 물리적 및 화학적 손상에 직접적으로 노출되어 쉽게 DNA 손상이 유발될 수 있으므로 연구자들은 우리나라 위암 조직들을 대상으로 현미 부수체 불안정성과 *Chk1* 유전자의 격자이동 돌연변이를 조사하여 위암에서 현미부수체 불안정성과 *Chk1* 유전자 돌연변이와의 상관관계를 알아보고자 하였다.

방 법

1) 재료와 DNA 추출

2001년 이후 강남성모병원에서 근치적 위 절제술을 받은 95명의 위암 조직을 대상으로 하였다. 종양조직과 정상조직의 DNA를 순수하게 분리하기 위하여 레이저를 이용한 미세절제장비(ION-LMD; JungWoo International Co. Seoul, Korea)로 미세절제를 실시하였다. 미세절제된 세포들을 즉시 0.05 M Tris-HCl, 10 mM ethylenediamine tetra-acetic acid (EDTA)와 1% Tween 20 (Sigma, St. Louis, MO)가 포함된 용해 용액 30 ml에 넣은 다음, 0.1 mg/ml proteinase K (pH 8.0)를 첨가하고 37°C에서 밤새 방치하였다. proteinase K를 불활성화시키기 위해 95°C에서 15분간 방치한 다음 1 ml의 용액을 중합효소연쇄반응에 사용하였다.

2) 현미부수체 불안정성 분석

현미부수체 불안정성을 측정하기 위한 표식자는 미국 암 연구소의 Bethesda 기준에 따라 현미부수체 *BAT-26*, *BAT-25*, *BAT-34*, *D2S123*, *D17S250*, *APCII* (Research Genetics, Huntsville, AL)를 사용하였다(22). 중합효소연쇄반응액은 1 μ l의 template DNA, 각 primer 0.4 μ M, 0.2 mM dNTP, 1.5 mM MgCl₂, 0.4 U Taq polymerase (Perkin Elmer, Foster City, CA), 0.05 μ l [α -³²P]dCTP (10 mCi/ml), 그리고 10X buffer로 총 양이 10 μ l가 되게 하였다. 중합효소연쇄반응은 95°C에서 50초 동안 변성시키고 annealing 온도의 경우 *BAT-26*, *BAT-25*는 47°C, *BAT-34*는 62°C, *D2S123*, *D17S250*는 55°C, *APCII*는 56°C로 하였다. extension은 72°C에서 90초간 35 cycle을 시행하며 마지막 10분간을 72°C에 두었다. 반응산물 2 μ l를 8.1 M urea를 함유한 6% polyacrylamide sequencing gel에서 80 W로 3시간 동안 전기영동을 실시하였다. 전기영동 후 3 mm whatman paper에 옮겨 말린 다음 Kodak X-OMAT 필름에 노출시켰다. 현미부수체 불안정성은 위암세

포 DNA가 정상조직의 DNA band에 비해 이동거리가 다른 경우로 하였다.

3) Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) and sequencing analysis

현미부수체 불안정성이 있는 위암조직 DNA에서 *Chk1* 유전자의 poly A(9) 부분 돌연변이를 조사하기 위해 SSCP를 시행하였다. 중합효소연쇄반응의 조건은 현미부수체 불안정성 조사에서 사용한 조건과 같았으나 annealing 온도는 48°C에서 시행하였고 사용한 primer는 5-CTC GCT GGA GAA TTG CCA-3' (sense; *Chk1*-F), 5'-TTT CCA AGG GTT GAG GTA-3' (antisense; *Chk1*-R)이다.(21) 2 μ l의 반응산물을 같은 양의 formamide loading dye (95% formamide, 20mM EDTA, 0.05% bromophenol blue와 0.05% xylene cyanol)와 섞은 다음 95°C에서 5분간 변성시킨 후 10% glycerol을 함유한 MDE gel (AT biochem, Malvern, PA)에 loading하여 8 W로 실온에서 16~18시간 동안 전기영동을 시행한 후, 3 mm Whatman paper에 옮겨 말린 후 노출된 필름에서 정상 band와 다른 이동을 보이는 중합효소연쇄반응 산물의 유무를 조사하였다. 노출된 필름을 지포로 하여 비정상적 전기영동 band들을 dried gel에서 분리해 내고 이를 100 μ l의 증류수로 DNA를 추출하였다. 이를 다시 같은 primer로 중합효소연쇄반응을 한 뒤 low melting agarose gel (Seakem GTG agarose, FMC Bioproducts ME)에 걸어서 UV하에서 band를 다시 분리하였다. 분리한 DNA는 cyclic sequencing kit (Perkin-Elmer, Foster City, CA)를 이용하여 제조사의 안내에 따라 염기서열을 분석하였다. 발견된 돌연변이를 확인하기 위하여 미세절제부터 모든 과정을 3번 반복 실험하였다.

결 과

1) 현미부수체 불안정성

95예의 한국인 위암을 대상으로 6가지의 현미부수체를 사용하여 현미부수체 불안정성을 조사한 결과 모두 19예(20%)에서 현미부수체 불안정성을 관찰할 수 있었는데 이들의 조직학적 분류는 장형위암(intestinal-type)이 14예였으며 미만형(diffuse-type)이 5예였다. 각각의 현미부수체에서의 불안정성을 살펴보면 *BAT-25*표식자에서는 9예, *BAT-26*은 6예, *BAT-34*는 7예, *D2S123*은 10예, *APCII*에서는 7예, 그리고 *D17S250*에서는 7예에서 불안정성이 관찰되었다. 흥미롭게도 한 예는 본 연구에 사용한 6개의 현미부수체 모두에서 불안정성을 보였으며, 2예는 5개의 현미부수체에서 불안정성을 보였다(Fig. 1). 종합적으로 현미부수체 불안정성이 2개 이상의 표식자에서 관찰되는 고빈도 현미부수체 불안정성은 13예에서 발견되었고 1개의 표식자에서 관찰되는 저빈도 현미부수체 불안정성은 모두 6예에서 관찰되었다. 고빈도 현미부수체 불안정성을 보인 13예 중 11예

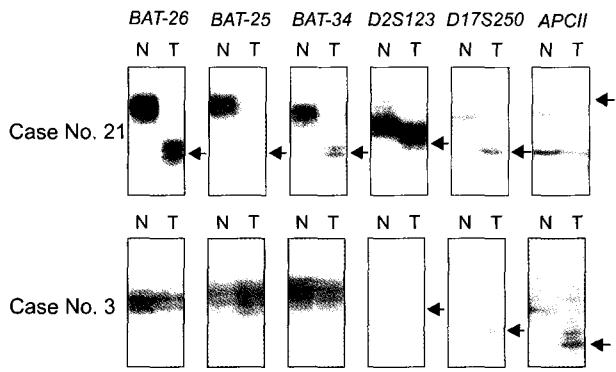


Fig. 1. Representative examples of microsatellite instability at 6 microsatellite markers. Arrow indicates microsatellite instability. N = normal DNA; T = tumor DNA.

와 저빈도 현미부수체 불안정성으로 보인 6예 중 3예가 장형위암이었다.

2) Chk1 유전자 돌연변이

현미부수체 불안정성을 보인 19예의 종양 DNA에서 Chk1 유전자의 격자이동 돌연변이를 조사하여 2예에서 Chk1 유전자의 poly A(9) 중 adenine 하나가 소실되어 poly A(8)로 되는 격자이동 돌연변이를 발견하였다(Fig. 2). 2예에서 발견된 돌연변이는 SSCP 겔에서 야생형과 변이형의 band를 모두 보여 hemizygous 돌연변이었다. 이 격자이동 돌연변이는 474개의 아미노산으로 구성된 Chk1 단백을 238 codon에서 stop codon을 만들어 truncated Chk1 단백을 형성하도록 하였다. Chk1 유전자의 변이가 있었던 예들은 각각 4개와 2개의 표식자에서 불안정성을 보인 고빈도 현미부수체 불안정의 예들이었다.

고 찰

최근 위암 연구에 분자생물학이 접목됨에 따라 위암 발생은 정상의 점막 상피세포가 종양억제유전자, 종양유전자 그리고 DNA 교정 관련 유전자들의 변이와 발현 변화가 축적됨으로써 암세포로 변형되고 지속적으로 증식하는 복잡한 다단계 과정임이 밝혀지고 있다.(23) 위암의 발생과 진행에 관련된 유전자들의 변화는 형태학적 진단의 한계를 극복할 수 있을 뿐만 아니라 위암의 정확한 진단과 악성 정도 그리고 고위험군의 환자를 알아낼 수 있는 효과적인 표식자 역할을 할 것으로 기대하고 있다.

DNA의 짧은 반복 염기서열의 결손이나 삽입으로 인하여 발생하는 현미 부수체 불안정성은 부정합 교정 유전자의 기능 소실에 발생하며 암 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.(14-16) 연구자들은 이전 보고에서 한국인 위암 29예 중 6예(20%)에서 여러 종양억제유전자 부위들의

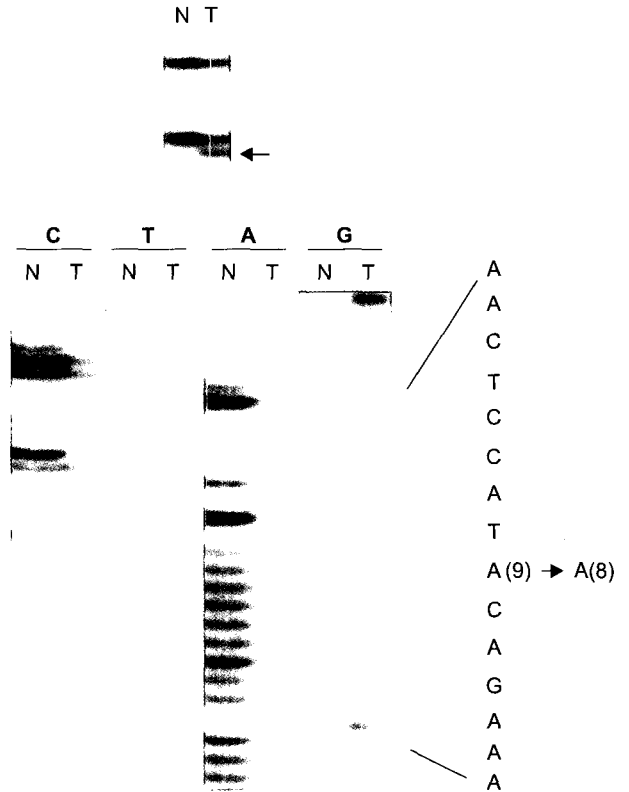


Fig. 2. Representative results showing SSCP and direct sequencing of Chk1 gene. SSCP demonstrating both wild-type and mutant-type (arrow) bands and sequencing gel showing one adenine deletion at poly A (9) site of Chk1 gene. N = normal DNA; T = tumor DNA.

현미 부수체 불안정성을 발견하여 보고하였고,(24) 본 연구에서도 95예의 위암을 대상으로 종양억제유전자들과 연관된 6개의 표식자를 이용하여 현미부수체 불안정성을 조사한 결과 19예(20%)에서 불안정성을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 위암에서 현미부수체 불안정성의 빈도는 연구자들이 사용한 현미부수체의 개수와 종류 그리고 연구에 사용된 위암 시료들의 임상·병리적 소견의 차이에 따라 10%에서 44%까지 다양하게 보고되고 있으며,(14-16) 위암에서 현미부수체 불안정성을 유발하는 부정합 교정 유전자들의 발현이나 기능 소실이 비교적 흔한 것으로 알려진 바 있다.(25) 이러한 모든 결과들을 종합하면 현미부수체 불안정성은 종양억제유전자를 비롯한 세포 내 여러 유전자들의 불안정성을 유도하여 위암의 발생에 관여하는 것으로 생각한다.

한편, 세포주기 중 G2/M 단계에서 checkpoint 역할을 하는 Chk1 유전자는 DNA 복제 과정을 최소화하여 G1/S 단계에도 관여하며,(18) 세포주기의 진행을 촉진하는 Cdc25 phosphatase의 분해와 Cdk 복합체 형성을 억제하여 세포주기의 진행을 조절하는 것으로 알려져 있다.(26) 또한 Chk1 유전자를 이형접합성으로 가진 생쥐(heterozygous mice)에서는 DNA 복제 과정 중에 DNA 손상들이 축적되었다.(27)

이러한 결과들은 Chk1 단백질이 세포 내 게놈의 안정성과 세포주기 조절에 매우 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다. 최근, *Chk1* 유전자의 격자이동 돌연변이가 현미부수체 불안정성을 가진 대장암과 자궁암에서 처음 발견되었으며 기능적으로는 변이형(mutant type)이 야생형에 비하여 우성의 역할(dominant effect)을 하여 세포주기에서 G2 checkpoint로서 역할을 하는 Chk1 야생형을 억제하는 것으로 예상되었다.(21) 본 연구에서는 현미부수체 불안정성이 있는 위암 19예에서 *Chk1* 유전자의 격자이동 돌연변이를 조사하여 2예에서 발견할 수 있었는데 둘 다 poly A(9) 중 adenine 하나의 소실로 인해 codon의 격자이동이 발생되었으며 *Chk1* 유전자의 238 codon에서 stop codon이 형성되는 truncated 돌연변이였다(Fig. 2). 흥미롭게도, 효모에서 인산화된 Chk1 단백질이 Cdc25를 불활성화시키기 위해 14-3-3 단백질과 결합하는 영역이 아미노산 285에서 312번에 해당하는 것으로 알려져 있다.(28) 본 연구에서 *Chk1* 변이형에 대한 기능적 조사는 시도하지 않았지만, 위암에서 발견된 truncated Chk1 단백질은 14-3-3과 결합 영역(binding domain)이 소실되어 있으므로 Cdc25를 불활성화시키는 기능을 소실함과 동시에 세포주기 G2/M checkpoint 역할도 함께 소실하였을 것으로 추측된다.

상기의 결과들을 종합하면 부정합 교정관련 유전자들의 발현 및 기능 소실은 현미부수체 불안정성과 함께 게놈 불안정성을 유발하고 세포주기 G2/M 단계에서 checkpoint로 작용하는 Chk1 유전자의 격자이동 돌연변이를 유도하여 세포주기 조절 기능을 상실하게 함으로써 위암의 발생에 관여한다고 할 수 있다. 앞으로 현미부수체 불안정성이 위암의 발생에 어떤 직접적인 영향을 미치는지를 조사하기 위하여 현미부수체 불안정성이 있는 좀 더 많은 위암 조직을 대상으로 *Chk1*을 비롯한 종양 발생 관련 유전자들의 돌연변이에 대한 조사가 필요할 것으로 생각한다.

결 론

연구자들은 95예의 위암을 대상으로 현미부수체 불안정성을 조사하고 세포주기 G2/M 단계에서 checkpoint로 중요한 역할을 하는 Chk1 유전자의 돌연변이를 검색하여 부정합 교정관련 유전자들의 발현 및 기능 소실은 현미부수체 불안정성과 함께 게놈 불안정성을 유발하고 *Chk1* 유전자의 격자이동 돌연변이를 유도하여 세포주기 조절 기능을 상실하게 함으로써 위암의 발생에 관여한다는 것을 알 수 있었다.

REFERENCES

1. Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trend Genet* 1993;9:138-141.

2. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *Pathologic basis of disease*. 7th ed. Philadelphia: Saunders, 2005:269-342.

3. Lee WH, Bookstein R, Hong F, Young SJ, Shew YJ, Lee EY. Human retinoblastoma susceptibility gene: cloning, identification, and sequence. *Science* 1987;235:1394-1399.

4. Isobe M, Emanuel BS, Givol D, Oren M, Croce CM. Localization of gene for human tumour antigen to band 17p13. *Nature* 1986;320:84-85.

5. Kamb A, Shattuck-Eidens D, Eeles R, et al. Analysis of the p16 (CDKN2) as a candidate for the chromosome 9p melanoma susceptibility locus. *Nat Genet* 1994;8:22-26.

6. Kinzler KW, Nilbert MC, Su LK, Vogelstein B, Bryan TM, Levy DB. Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. *Science* 1991;353:661-665.

7. Latif F, Tory K, Gnarr J, et al. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Science* 1993; 260:1317-1320.

8. Hall JM, Lee MK, Morrow J, et al. Linkage of early-onset familial breast cancer to chromosome 17q21. *Science* 1990; 250:1684-1689.

9. Hahn SA, Schutte M, Hoque AT, et al. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1. *Science* 1996;271:350-353.

10. Perucho M. Cancer of the microsatellite mutator phenotype. *Biol Chem* 1996;377:675-684.

11. Liu B, Parsons R, Papadopoulos N, et al. Analysis of mismatch repair genes in hereditary non-polyposis colorectal cancer patients. *Nat Med* 1996;2:169-174.

12. Parsons R, Li GM, Longley MJ, et al. Hypermutability and mismatch repair deficiency in RER+ tumor cells. *Cell* 1993; 75:1227-1236.

13. Leung SY, Yuen ST, Chung LP, Chu KM, Chan AS, Ho JC. hMLH1 promoter methylation and lack of hMLH1 expression in sporadic gastric carcinomas with high-frequency microsatellite instability. *Cancer Res* 1999;59:159-164.

14. Chong JM, Fukayama M, Hayashi Y, et al. Microsatellite instability in the progression of gastric carcinoma. *Cancer Res* 1994;54:4595-4597.

15. Rhyu MG, Park WS, Meltzer SJ. Microsatellite instability occurs frequently in human gastric carcinoma. *Oncogene* 1994; 9:29-32.

16. An C Choi IS, Yao JC, et al. Prognostic significance of CpG island methylator phenotype and microsatellite instability in gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005;11:656-663.

17. Zhou BB, Elledge SJ. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature* 2000;408:433-439.

18. Syljuasen RG, Sorensen CS, Hansen LT, et al. Inhibition of human Chk1 cause increased initiation of DNA replication, phosphorylation of ATR targets, and DNA breakage. *Mol Cell Biol* 2005;25:3553-3562.

19. Bartek J, Lukas C, Lukas J. Checking on DNA damage in S phase. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004;5:792-804.

20. Liu Q, Guntuku S, Cui XS, et al. Chk1 is an essential kinase that is regulated by ATR and required for the G(2)/M DNA damage checkpoint. *Genes Dev* 2000;14:1448-1459.
21. Bertoni F, Codegani AM, Furlan D, et al. Chk1 frameshift mutations in genetically unstable colorectal and endometrial cancers. *Genes Chromosomes Cancer* 1999;26:176-180.
22. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, et al. A National Cancer Institute Workshop on microsatellite instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998;58:5248-5257.
23. Yuasa Y. Control of gut differentiation and intestinal-type gastric carcinogenesis. *Nat Rev Cancer* 2003;3:592-600.
24. Cho YG, Kim CJ, Park CH, et al. Loss of heterozygosity and microsatellite instability at multiple tumor suppressor genes in gastric carcinomas. *J Korean Gastric cancer Assoc* 2003;3: 214-220.
25. Yao Y, Tao H, Kim JJ, et al. Alterations of DNA mismatch repair proteins and microsatellite instability levels in gastric cancer cell lines. *Lab Invest* 2004;84:915-922.
26. Lam MH, Rosen JM. Chk1 versus Cdc25. *Cell Cycle* 2004;3: 1355-1357.
27. Lam MH, Liu Q, Elledge SJ, Rosen JM. Chk1 is haploinsufficient for multiple functions critical to tumor suppression. *Cancer Cell* 2004;6:45-59.
28. Chen L, Liu TH, Walworth NC. Association of Chk1 with 14-3-3 protein is stimulated by DNA damage. *Genes Dev* 1999;13:675-685.

= Abstract =

Mutation of the *Chk1* Gene in Gastric Cancers with Microsatellite Instability

Jong Heun Lee, Young Gu Cho, Jae Whie Song, Cho Hyun Park, M.D.¹, Suk Woo Nam, Ph.D., Sug Hyung Lee, M.D., Nam Jin Yoo, M.D., Jung Young Lee, M.D. and Won Sang Park, M.D.

Departments of Pathology and ¹Surgery, The Catholic University of Korea College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: The protein kinase Chk1 is required for cell cycle arrest in response to DNA damage and is shown to play an important role in the G2/M checkpoint. The aim of this study was to investigate the relationship between microsatellite instability and frameshift mutation of the *Chk1* gene in gastric cancers.

Materials and Methods: The microsatellite instability was analyzed in 95 primary gastric carcinomas by using microdissection and 6 microsatellite markers. We also performed single strand conformational polymorphism and sequencing to detect frameshift mutation of the *Chk1* gene.

Results: We found positive microsatellite instability in 19 (20%) of the 95 gastric cancers, 13 high- and 6 low-frequency microsatellite instability cases. The frameshift mutation of *Chk1*, which resulted in a truncated Chk1 protein, was detected in two high-frequency microsatellite instability cases.

Conclusion: These data suggest that the microsatellite instability may contribute to the development of gastric carcinomas through inactivation of Chk1. (**J Korean Gastric Cancer Assoc 2005;5:260-265**)

Key Words: Gastric cancer, Microsatellite instability, Mutation, Cell cycle