

FISH를 이용한 다운증후군과 에드워드증후군의 신속한 산전확인 : 309예의 임상적 고찰

포천중문의과대학교 강남차병원 산부인과¹, the Human Genetic Center²

강진희¹ · 이숙환^{1,2} · 박상희² · 박지현³ · 김지연¹ · 한원보¹ · 김인현¹ · 박상원¹
장진범¹ · 이경진¹ · 박희진¹ · 전해선¹ · 이경주¹ · 신중식¹ · 차동현^{1,2}

Rapid prenatal diagnosis of Down syndrome and Edward syndrome by fluorescence In situ hybridization : Clinical experience with 309 cases

Jin Hee Kang, M.D.¹, Sook Hwan Lee, M.D.^{1,2}, Sang Hee Park, Ph.D.²
Ji Hyun Park, M.D.³, Ji Youn Kim, M.D.¹, Won Bo Han, M.D.¹, In Hyun Kim, M.D.¹
Sang Won Park, M.D.¹, Jin Beum Jang, M.D.¹, Kyoung Jin Lee, M.D.¹
Hee Jin Park, M.D.¹, Hye Sun Jun, M.D.¹, Kyung Ju Lee, M.D.¹
Joong Sik Shin, M.D.¹, and Dong Hyun Cha, M.D.^{1,2}

¹Department of Obstetrics and Gynecology, ²The Human Genetic Center, College of Medicine, Pochon CHA University, CHA General Hospital, Seoul, Korea

³Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine, Pochon CHA University, Pundang CHA general hospital, Sunnam, Korea

Purpose : The purpose of this study was to evaluate the clinical utility of rapid detection of Down syndrome and Edward syndrome by Interphase Fluorescence in Situ Hybridization (FISH) analysis

Methods : A retrospective study in 309 cases of amniotic fluid samples, analysed by interphase FISH with DNA probes specific to chromosome 18 and 21, was performed. All FISH results were compared with conventional cytogenetic karyotypings.

Results : The results were considered as informative and they were obtained within 48 hrs. A case of Down syndrome and a case of Edward syndrome were diagnosed by FISH and confirmed by subsequent cytogenetic analysis. In 12 cases with normal FISH results, the cytogenetic analysis showed a case of partial trisomy 22, three cases of sex chromosomal aneuploidy, two cases of mosaicism, two cases of microdeletion, and four cases of structural rearrangement.

Conclusion : FISH is a rapid and effective diagnostic method, which can be used as an adjunctive test to cytogenetic analysis, for prenatal identification of chromosome aneuploidies. For the more genome-wide screening with variety of probes, the technique of FISH is both expensive and labor-intensive.

Key Words : Fluorescence in situ hybridization, Prenatal diagnosis, Amniocentesis, Karyotype, Down syndrome, Edward syndrome

서 론

염색체의 수와 구조적 이상에 의한 유전질환의 발생률은 전체 출생의 0.5-0.6%에 달하고 이중 2/3이상은 특이한 신체적 이상이 없고 1/3만이 외형적 이상을 동반하는데 이중 66%가 다운증후군으로서 빈도가 가장 높으며 다음이 에드워드스증후군으로 이 두 질환이 전체 상염색체 이수성 질환의 93%를 차지하는 것으로 보고 되고 있다¹⁾. 염색체 이상의 위험이 높은 산모에서는 양수검사(amniocentesis)나 융모막용모샘플(chorionic villus sampling)을 통해 태아세포를 채취한 후 염색체 핵형 분석법을 실시하는데, 염색체 핵형 분석법의 결과는 10-14일간의 배양 및 분석 시간이 소요된다. 이 기간동안 결과에 상관없이 산모와 가족은 일반적으로 매우 심각한 심리적 불안감을 갖게 되며, 이 불안감 때문에 검사를 포기하는 사례도 종종 관찰된다. 이에 보다 신속하게 결과를 얻을 수 있는 검사 방법에 대한 요구가 매우 증가하고 있다.

FISH (fluorescence in-situ hybridization) 검사법은 이런 요구에 의해 1990년대 중반 이후 산전진단에 있어서 많이 이용되어 왔으며, 1993년 미국의학유전학회(American College of Medical Genetics)에서는 산전진단에 있어 FISH 검사적용의 지침이 마련되었다²⁾. 1992년부터 임상에 적용되기 시작한 FISH 검사는 염색체 특이 소식자(chromosome specific probe)를 사용하여 중기 뿐 아니라 간기 세포에서도 염색체의 수적 구조적 이수성을 발견할 수 있게 되었다. 이는 염색체 핵형 분석법에 비해 세포배양이 필요 없어 결과를 얻기까지 시간이 적게 걸리고(24-48시간) 검사에 필요한 검체가 적은 장점이 있다³⁾.

이에 본 병원에서는 염색체 이상이 의심되어 양수검사를 시행한 산모 중에서 유전질환의 가능성이 높아 빠른 진단과 치료가 필요한 경우나 환자와 가족의 불안감이 심한 경우에 염색체 핵형 분석 결과를 보고하기 전에 가장 빈도가 높은 다운증후군과 에드워드스증후군에 대한 진단을 probe를 이용한 FISH 검사를 통해 산모에게 빠르게 결과를 보고하였으며, 염색체 핵형 분석 결과와 비교, 확인하였다. 이에 이 검사의 임상적 유용성과 한계성을 보고하고자 한다.

대상 및 방법

1. 대 상

2006년 3월부터 2007년 2월까지 12개월간 본원 산부인과에서 산전유전검사로 염색체 검사를 시행한 1405개의 양수천자 중에서 FISH 검사를 같이 시행한 309예를 대상으로 하였다. 환자군의 임상특성을 보고, FISH의 결과와 염색체 검사결과를 비교하였다. 양수검사를 시행한 대상은 기형아 선별 검사에서 양성이거나, 고령이거나, 초음파상의 이상소견이 있거나, 과거 임신에서 선천적 구조 이상을 가진 태어나 염색체 이상 태아를 임신한 과거력이 있는 산모를 대상으로 하였으며 시행한 시기는 제태연령 14주 5일에서 31주 5일까지였다. 가장 빈도가 높은 다운증후군과 에드워드스증후군을 대상으로 21번과 18번 염색체에 대한 probe를 사용하여 FISH 검사를 시행하였고, 염색체 핵형 분석 결과와 비교하였다. 모든 검사는 유전자 동의서에 검사 동의를 서명한 후에 시행하였다.

2. 방 법

FISH검사를 위한 probe는 미국 Vysis사의 LSI (Locus Specific Identifier) 21과 CEP (Chromosome Enumeration Probe) 18을 사용하였다. LSI 21은 21번 염색체의 probe로 21q22.13-q22.2부위에 결합하여 오렌지색의 형광을 나타내고, CEP 18은 18번 염색체의 probe로 18p11.1-q11.1부위와 결합하여 초록색의 형광을 나타낸다. 양수천자시 약 20 mL의 양수액을 채취하여 이중 5 mL를 FISH검사에 사용하였고 나머지는 염색체 핵형분석에 이용하였다. FISH검사의 전 과정은 Vysis사의 manual을 따라 양수를 5 mL를 두개의 슬라이드위에 hybridization 시킨 후 형광현미경으로 관찰하였다. 결과의 해석은 잘 훈련된 두 검사자에 의해 각각 독립적으로 확인하였으며 두 검사자가 각각 50개씩 총 100개의 세포를 관찰하였다. 정상과 이수성의 판단은 최소한 85% 이상의 세포에서 동일한 결과를 얻는 것을 기준으로 하였다(Fig. 1, 2). 총 309예의 결과는 48시간 내에 확인되었고, 염색체 핵형분석 결과는 검사 시행일로부터 약 2주내에 보고 되어 이 두 결과를 비교하였다.

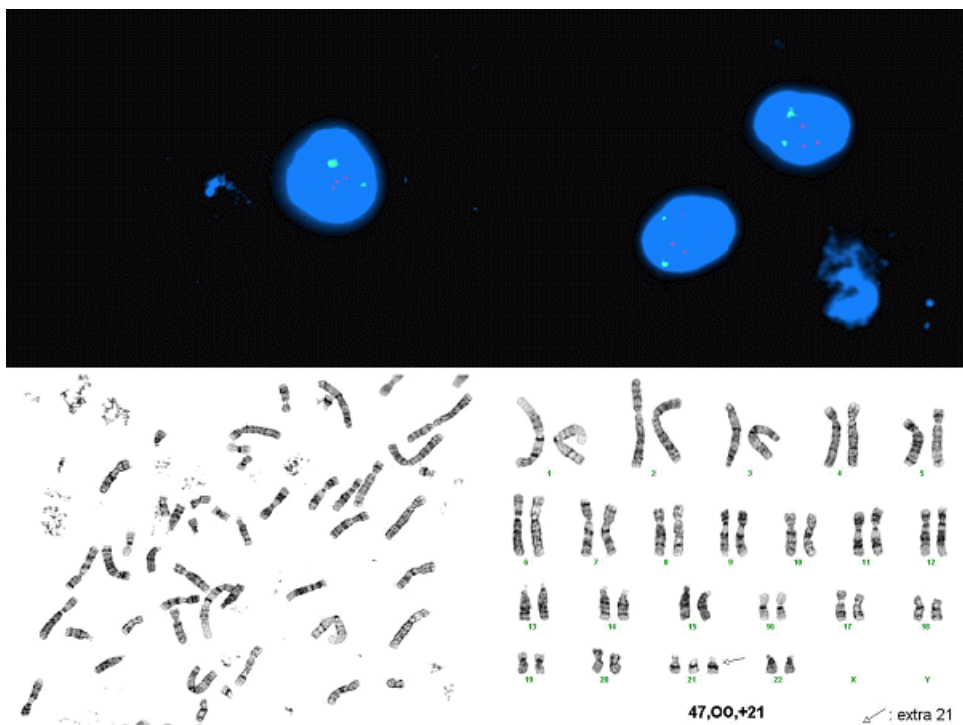


Fig. 1. Results of FISH and cytogenetic analysis on Down syndrome. A, B) interphase nucleus hybridized with probes specific for chromosome 18 and 21 showing 3 red and 2 green signals indicating trisomy 21. C, D) G-banding cytogenetic analysis show the extra chromosome 21.

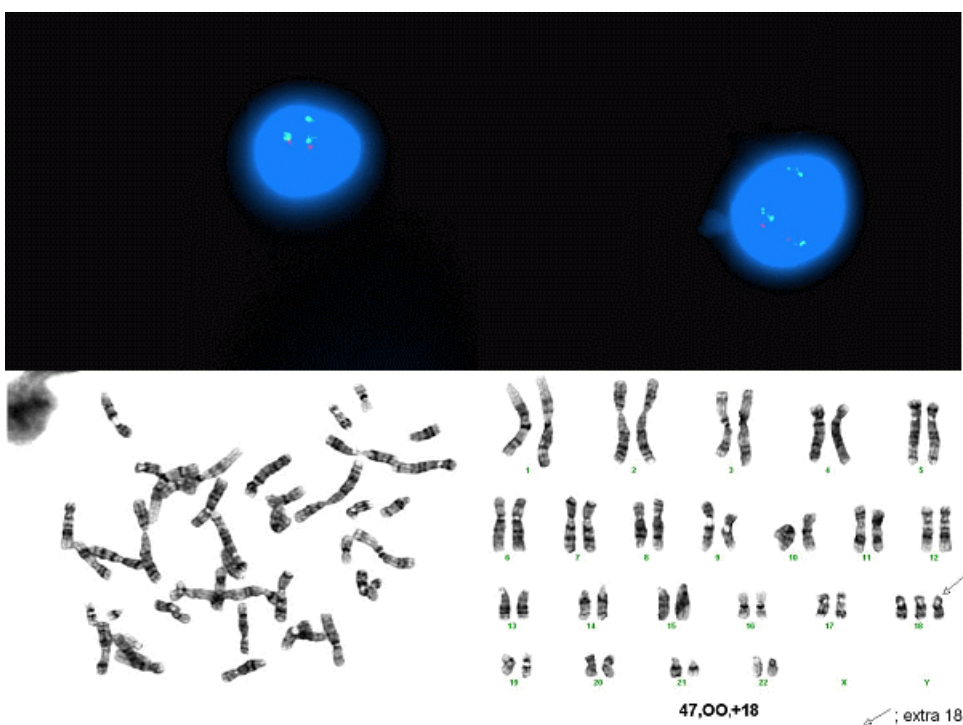


Fig. 2. Results of FISH and cytogenetic analysis on Edward syndrome. A, B) interphase nucleus hybridized with probes specific for chromosome 18 and 21 showing 2 red and 3 green signals indicating trisomy 18. C, D) G-banding cytogenetic analysis show the extra chromosome 18.

결 과

양수천자 후 염색체 핵형 검사와 함께 FISH 검사를 시행한 산모의 평균연령은 34.18세로 19세에서 46세까지의 연령별 분포는 Table 1과 같다. 염색체 검사를 시행한 대상은 35세 이상에서 40세 미만의 산모가 137예(44.3%)로 가장 많았으며, 30세 이상에서 39세까지가 249예로 전체의 80.5%를 차지했다. 이중 염색체 이수성 임신의 비율은 40세 이상 산모의 22예중 2예로 9.1%로 가장 높았으며, FISH 검사로 다운증후군과 에드워드스증후군을 진단받은 경우는 각각 38세, 42세로 2예였다. 평균임신주수는 18주(126.12일)로 14주 5일에서 31주 5일까지의 임신주수별 분포는 Table 2와 같다. 제태연령 17주 이상에서 18주 미만인 109예(35.3%)로 가장 많았고, 16주 이상에서 19주 미만까지가 239예로 전체의 77.3%를 차지했다. 염색체 이수성 임신의 비율은 제태연령 20주 이상에서 28예 중 2예(7.1%)로 가장 높았다. FISH 검사로 다운증후군과 에드워드스증후군을 진단받은 경우는 각각 제태연령 21주 2일과 17주 3일 이었다.

양수검사의 적응증별 유형은 산모혈청검사상 고위험군으로 분류된 경우가 131예(42.4%)로 가장 많았고, 다음이 35세 이상의 고령임신 121예(39.2%), IVF (ICSD)를 통한 임신이

26예(8.4%), 초음파상의 이상소견을 보인 경우가 19예(6.1%)였고, 초음파상에 보이는 이상소견으로는 다발성 기형이 6예, 목덜미뚜명대 증가가 5예, 맥락막총낭종 4예, 심실중격결손 2예, 횡격막탈장 1예, 태아수종 1예이다. 그 외 적응증으로는 염색체 이상 태아 임신 과거력이 6예(1.9%), 다발성 기형아 임신 과거력이 3예(1.0%), 산모와 보호자의 불안에 의한 경우가 3예(1.0%)이다. 염색체 이수성 6예 중 3예가 산모혈청검사상의 고위험군으로 분류된 경우였으며, 고령산모 1예, 목덜미뚜명대 증가와 횡격막탈장의 초음파상 이상소견이 각각 1예씩이었다. FISH 검사에 의해 진단된 다운증후군과 에드워드스증후군은 둘 다 산모혈청검사상의 고위험군으로 분류된 경우였다.

FISH에 의한 결과는 총 309예에서 성공적으로 얻을 수 있었으며, 모두 염색체 핵형 분석 결과와 비교하였다. 염색체 21번의 LSI 21 probe와 염색체 18번의 CEP 18 probe를 이용한 FISH 검사에서 염색체 이수성이 발견된 경우는 2예(0.6%)로 각각 1예씩의 다운증후군과 에드워드스증후군을 진단할 수 있었으며, 이들은 염색체 핵형 검사에서 확인하였다. 염색체 핵형 분석에서 전체 14예(4.5%)의 이상이 발견되었는데, 염색체 이수성은 전체 6예(1.9%)로 FISH에서 발견된 다운증후군과 에드워드스증후군 외에 partial trisomy 22 1예와 터너증후군 1예, 47, XYY 1예, 47, XXX 1예 등 3예의 성염색체 이수성 질환이 진단되었다. 다운증후군과 에드워드스증후군은 진단 직후 임신 종결하였고, 부계(paternal) 유전된 supernumerary derivative chromosome 22에 의한 partial trisomy 22 {47,XY,+der(22),t(11;22)(q24;q12)pat}는 초음파상 좌측 선천성 횡격막 결손을 동반하고 있어 다른 병원으로 전원하였으나 추후 추적관찰은 되지 않았다. 터너증후군과 47, XXX는 추적관찰에 실패하였고, 47, XYY는 제태연령 38주 4일에 전치태반으로 제왕절개술을 시행하여 출생체중 2,610 g의 남아를 분만하였다.

이 외에도 염색체 핵형 분석 결과 8예(2.6%)의 구조적 이상소견이 있었는데 정상범주인 9 inversion 3예 외에 balanced translocation 1예, microdeletion 2예, 8번 염색체의 결손과 ring chromosome의 mosaicism 1예, marker chromosome의 mosaicism 1예가 발견되었다. 염색체9번과 10번의 reciprocal balanced translocation {46,XY,t(9;10)(p10;q10)} 1예는 부모의 염색체 검사결과 정상이어서 현재 산전관리 중이다. 15번 염색체의 p arm의 heterochromatin region의 감소가 있는 microdeletion {46,XX,15cenh-psk-ps-} 1예는 정

Table 1. Maternal age variations at amniocentesis

Age (years)	No. of samples (%)	No. of aneuploidy (%)	No. of sample detected in FISH
≤24	7 (2.4)	0	
25-29	31 (10.0)	0	
30-34	112 (36.2)	3	
35-39	137 (44.3)	1	1
≥40	22 (7.1)	2	1
Total	309 (100.0)	6	

Table 2. Gestational age variations at amniocentesis

Gestational age (weeks)	No. of samples (%)	No. of aneuploidy (%)	No. of sample detected in FISH
<16	15 (4.9)	0	
16 ⁺⁰ -16 ⁺⁶	52 (16.8)	2	
17 ⁺⁰ -17 ⁺⁶	109 (35.3)	1	1
18 ⁺⁰ -18 ⁺⁶	78 (25.2)	0	
19 ⁺⁰ -19 ⁺⁶	27 (8.7)	1	
≥20	28 (9.1)	2	1
Total	309 (100.0)	6	

Table 3. Indications for amniocentesis undergone FISH procedures

Indications	No. of samples (%)	No. of aneuploidy	No. of sample detected in FISH
Abnormal maternal serum screening	131 (42.4)	3	2
Advanced maternal age	121 (39.2)	1	
IVF(ICSI)	26 (8.4)		
Abnormal ultrasound scan	19 (6.1)	2	
Multiple anomaly	6		
Increased NT	5	1	
CPC	4		
VSD	2		
Lt diaph hernia	1	1	
Hydrops	1		
Previous history of chromosomal abnormality	6 (1.9)		
Previous history of multiple anomaly	3 (1.0)		
Anxiety	3 (1.0)		
Total	309	6	2

Table 4. Chromosomal abnormalities found in FISH & conventional cytogenetic assay

Karyotype	No. of samples	No. of sample detected in FISH
47,XX, +21	1	1
47,XY, +18	1	1
47,XY, + der(22),t(11;22)(q24;q12)pat	1	
45,X	1	
47,XXY	1	
47,XXX	1	
46,XY,t(9;10)(p10;q10)	1	
46,XX,15cenh-pstk-ps-	1	
46,XY,22,ps-	1	
mos45,XY,-8 [13] /46,XY,r(8)(p22q36) [11]	1	
mos46,X,+mar [8] /46,XY [39]	1	
46,XY, inv9	2	
46,XX, inv9	1	
	14 (4.5%)	2 (0.6%)

상범주로 산전관리 하였으나, 제태연령 34주 이후 추적에 실패하였고, 22번 염색체의 p arm의 microdeletion {46,XY,22,ps-}의 예도 검사 이후 추적관찰에 실패하였다. 8번 염색체의 결손과 ring chromosome의 mosaicism {mos45,XY,-8 [13]/46,XY,r(8)(p22q36) [11]}의 1예는 부모의 염색체는 정상임을 확인하였고, 태아는 진단 후 임신 종결하였다. marker chromosome과 정상 Y chromosome의 mosaicism {mos46,X,+mar [8]/46,XY [39]}의 예는 부모의 염색체는 정상이었으며, 제태연령 38주 3일에 진통 중 아두골반 불균형으로 제왕절개술 시행하여 4,160 g의 남아를 분만하였다.

염색체 핵형 분석에 대한 FISH 검사 결과를 분석해 보면, FISH에서 양성인 2예는 모두 염색체 검사와 결과가 동일하여 위양성률(false positive rate)은 0%이고 FISH에서

음성인 305예 중 염색체 핵형 분석에서 18번과 21번 염색체의 이상소견을 보인 경우는 없어 위음성률(false negative rate)도 0%이다.

고 찰

일반적으로 이용되는 염색체 핵형 분석은 산전 진단의 가장 중요한 검사로 배양한 양수세포에서의 진단 정확도가 99.4-99.8%⁴⁾이고, 음모막용모샘플에서는 97.5-99.6%로⁵⁻⁷⁾ 매우 높아 우수하지만, 10-14일의 세포배양을 위한 시간이 필요한 단점이 있다. 산전 진단의 특성상 여러 가지 측면에서 빠른 결과의 보고가 매우 중요하므로 배양 검사의 결과를 부분적으로 보완할 수 있는 신속한 검사에 대한 필요성이 대

두되고 있다. 특히 산전 진단에서 가장 빈도가 높은 다운증후군과 에드워드스증후군과 같은 이수성 질환의 빠른 진단이 필요할 경우 FISH가 염색체 핵형 분석과 함께 시행되어서 이것의 임상적 효용성이 많이 보고 되어 왔다⁸⁻¹⁹⁾. 초기에는 각각의 연구소에서 만들어진 probe를 자체적으로 사용하였기 때문에 quality control 등이 되지 않아서 FISH 검사의 결과와 염색체 핵형 분석 결과를 비교하였을 때 위양성과 위음성이 비율이 높게 보고 되어 여러 문제점들에 대한 논란이 있었다⁸⁻¹⁰⁾. 그러나 이후 상업적으로 이용 가능하며, FDA의 승인을 받은 probe가 널리 보급되면서 위양성과 위음성이 많이 감소해 민감도 98.5-100%, 특이도 99.8-100%의 매우 정확한 보완 검사로 이용되고 있다¹¹⁻¹⁴⁾. 본 연구에서는 Vysis사에서 개발한 AneuVysion assay의 염색체 18번과 21번의 probe를 사용하였고 이것에 대한 위양성이나 위음성의 결과는 0%였다. 우리나라에서도 산전 진단에 있어 FISH의 적용이 발표되고 있지만 광범위하게 적용되고 있지는 않다¹⁵⁻¹⁹⁾.

FISH 검사는 특이 probe를 사용하므로 대상염색체의 특정부위 이외의 다른 염색체는 인식하지 못하므로 전체 유전자의 선별검사로는 한계가 있다. 초기에는 혼한 염색체 이수성 질환의 선별검사로 빠른 결과가 필요할 경우 염색체 핵형 분석의 보완적 검사로 활용되었으나, 점차 probe type을 다양화하여 비정상 구조의 염색체와 marker chromosome의 검사를 포괄하는 검사로 발전하고 있다²⁰⁾. 예를들면 repetitive squence probes는 각 centromere를 특이 인식하여 주로 18번, X, Y 염색체의 이수성 검사에 사용되는데, marker chromosome의 기원 염색체를 찾는데 활용한 보고도 있다²¹⁻²³⁾. whole chromosome painting probes를 이용해 translocation을 연구한 보고도 있고²⁴⁾, locus specific probes는 13번과 21번 염색체의 이수성 검사에 사용하는데 일부 deletion syndrome을 규명하는데 활용되어 염색체 핵형분석보다 더 우수한 결과가 보고되었다²⁵⁻²⁷⁾. 최근에는 FISH signals의 확인을 기계화하여 보다 효율적이고 경제적이면서 높은 정확도를 유지하는 연구가 소개되기도 하고²⁸⁾, 기존 FISH의 protocols을 변형하여 2시간이내의 빠른 결과를 발표하기도 했다²⁹⁾. 산전검사에 있어 FISH는 기계화의 도입으로 더욱 신속 정확한 선별검사로써 가능성이 있고, probe의 다양한 개발로 더 많은 유전질환의 진단적 검사로써도 큰 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서는 산전 유전질환의 선별검사로 초음파와 산

모 혈청 검사후 고위험군을 대상으로 채취한 양수액으로 염색체 핵형분석과 함께 빠른 진단을 위해 FISH를 같이 시행하였다. FISH probe는 18번과 21번 염색체에 특이한 probe를 이용하였고 이는 경제효율적인 면을 고려하여 생존출생아에서 신체적 기형을 보이는 빈도가 가장 높은 유전 질환이 다운증후군과 에드워드스증후군이고 이들 경우에 빠른 진단이 필요하기 때문이다. 1년간의 검사시행 결과 총 309예의 FISH검사가 시행되었고 다운증후군과 에드워드스증후군은 각각 1예씩으로 이들의 결과는 FISH와 염색체 핵형분석의 결과가 동일하였으며, 양수검사 후 48시간 내에 결과를 보고해 산모와 가족의 만족도를 매우 높일 수 있었다. 그러나 18번과 21번 이외의 염색체의 이수성과 구조적 이상은 발견하지 못했는데 12예(3.9%)로 상당부분을 차지했다. 이를 보완하기 위해서는 더 많은 종류의 probe와 검사과정이 필요하고, 이때 검사비용면에서 산전 선별검사로써 경제효율적인 면을 고려하지 않을 수 없다. FISH의 기술이 전문인력의 노동을 요하는 고가의 검사이므로 앞으로 FISH 검사과정의 간소화, 자동화, 그리고 기계화로 정확도를 유지하면서 검사시간을 더 단축하고 가격을 낮추는 방안이 계속 개발되어 이 한계를 극복할 수 있어야 할 것이다.

한글요약

목적 : 다운증후군과 에드워드스증후군의 빠른 진단에 있어 FISH 검사의 임상적 유용성과 한계성을 보고하고자 한다.

방법 : 유전질환이 의심되는 고위험임신 309예에서 양수검사를 통해 미배양 양수세포에서 18번과 21번 염색체의 probes를 이용한 FISH 검사를 시행하고 이들의 결과를 염색체 핵형분석 결과와 비교하였다.

결과 : 평균연령은 34.18세, 평균임신주수는 18주(126.12일)의 309예에서 FISH 검사는 모두 성공하였다. 각각 1예씩의 다운증후군과 에드워드스증후군이 FISH로 신속한 진단이 가능했으며 이들은 염색체 핵형 검사에서 확인하였다. 그러나 18번과 21번 이외의 염색체의 이수성과 구조적 이상은 발견하지 못했는데 모두 12예(3.9%)로 상당부분을 차지했다. 앞으로 산전 선별검사에 있어 FISH검사과정의 자동화 기계화로 더 시간을 단축하고 가격을 낮추는 방안이 계속 개발되어야 할 것이다.

참고문헌

- 1) Lynn BJ, John CC, Michael JB, Raymond LW. Medical Genetics 3rd ed. Philadelphia, USA: Elsevier, 2006, 1-3, 107-11.
- 2) American College of Medical Genetics. Prenatal interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) policy statement. *Am J Hum Genet* 1993;53:526-7.
- 3) Connor JM, Ferguson-Smith MA. Essential Medical Genetics. 5th ed. London: Blackwell Science, 1979, 3-6.
- 4) NICHD. Midtrimester amniocentesis for prenatal diagnosis. Safety and accuracy. *JAMA* 1976;236:1471-6.
- 5) Rhoads GG, Jackson LG, Schlesselman SE, de la Cruz FF, Desnick RJ, Golbus MS, et al. The safety and efficacy of chorionic villus sampling for early prenatal diagnosis of cytogenetic abnormalities. *N Engl J Med* 1989;320:609-17.
- 6) Lippman A, Tomkins DJ, Shime J, Hamerton JL. Canadian multicentre randomized clinical trial of chorionic villus sampling and amniocentesis. Final report. *Prenat Diagn* 1992;12:385-408.
- 7) Hahnemann JM, Vejerslev LO. Accuracy of cytogenetic findings on chorionic villus sampling (CVS)-diagnostic consequences of CVS mosaicism and non-mosaic discrepancy in centres contributing to EUCROMIC 1986-1992. *Prenat Diagn* 1997;17:801-21.
- 8) Kuo WL, Tenjin H, Segraves R, Pinkel D, Golbus MS, Gray J. Detection of aneuploidy involving chromosome 13, 18, or 21, by fluorescence in situ hybridization (FISH) to interphase and metaphase amniocytes. *Am J Hum Genet* 1991;49:112-9.
- 9) Klinger K, Landes G, Shook D, Harvey R, Lopez L, Locke P, et al. Rapid detection of chromosome aneuploidies in uncultured amniocytes by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Am J Hum Genet* 1992;51:55-65.
- 10) Ward BE, Gersen SL, Carelli MP, McGuire NM, Dackowski WR, Weinstein M, et al. Rapid prenatal diagnosis of chromosome aneuploidies by using fluorescence in situ hybridization: clinical experience with 4,500 specimens. *Am J Hum Genet* 1993;52:854-65.
- 11) Tepperberg J, Pettenati MJ, Rao PN, Lase CM, Rita D, Wyandt H. Prenatal diagnosis using fluorescence in situ hybridization (FISH): 2-year multi-center retrospective study and review of the literature. *Prenat Diagn* 2001;21:293-301.
- 12) Witters I, Devriendt K, Legius E, Matthijs G, Van Schoubroeck D, Van Assche FA, et al. Rapid prenatal diagnosis of trisomy 21 in 5049 consecutive uncultured amniotic fluid samples by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Prenat Diagn* 2002;22:29-33.
- 13) Luquet I, Mugneret F, Athis PD, Nadal N, Favre B, Abel C, et al. French multi-centric study of 2000 amniotic fluid interphase FISH analyses from high-risk pregnancies and review of the literature. *Ann Genet* 2002;45:77-88.
- 14) Wyandt HE, Tonk VS, Huang KL, Evans AT, Milunsky JM, Milunsky A. Correlation of abnormal rapid FISH and chromosome results from amniocytes for prenatal diagnosis. *Fetal Diagn Ther* 2006;21:235-40.
- 15) 남성원, 김유곤. 유전질환의 산전진단에 있어서 FISH의 유용성. *대한산부회지* 1995;38:1617-22.
- 16) 황도영, 장은주, 정경순, 김기철, 민응기, 최진 등. 미배양 양수세포에서 다운증후군과 에드워드스증후군의 확인을 위한 FISH의 이용. *대한산부회지* 1998;41:2859-63.
- 17) 김인규, 양영호, 최은경, 김미순, 김진영. FISH (fluorescence in situ hybridization)를 이용한 신속한 산전 염색체 이수성 (Aneuploidies) 진단. *대한산부회지* 1998;41:1315-22.
- 18) Lim HJ, Kim YJ, Yang JH, Kim EJ, Choi JS, Jung SH, et al. Amniotic fluid interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) for detection of aneuploidy; experiences in 130 prenatal cases. *J Korean Med Sci* 2002;17:589-92.
- 19) 김태용, 최태영, 정소영, 정옥선, 문화숙, 김상국. 혼한 염색체 수적 이상의 신속한 산전확인을 위한 FISH의 임상적 적용: 300예의 임상적 고찰. *대한태아의학회지* 2006;2:46-52.
- 20) Liehr T, Claussen U, Starke H. Small supernumerary marker chromosomes (sSMC) in humans. *Cytogenet Genome Res* 2004;107:55-67.
- 21) Callen DF, Eyre H, Yip MY, Freemantle J, Haan EA. Molecular cytogenetic and clinical studies of 42 patients with marker chromosomes. *Am J Med Genet* 1992;43:709-15.
- 22) Blennow E, Bui TH, Kristoffersson U, Vujic M, Anneren G, Holmberg E, et al. Swedish survey on extra structurally abnormal chromosomes in 39,105 consecutive prenatal diagnoses: Prevalence and characterization by fluorescence in situ hybridization. *Prenat Diagn* 1994;14:1019-28.
- 23) Daniel A, Malafiej P, Preece K, Chia N, Nelson J, Smith M. Identification of marker chromosomes in thirteen patients using FISH probing. *Am J Med Genet* 1994;53:8-18.
- 24) Spikes AS, Hegmann K, Smith JL, Shaffer LG. Use of fluorescence in situ hybridization to clarify a complex chromosomal rearrangement in a child with multiple congenital anomalies. *Am J Med Genet* 1995;57:31-4.
- 25) Driscoll DA. Prenatal diagnosis of the 22q11.2 deletion syndrome. *Genet Med* 2001;3:14-8.

- 26) Delach JA, Rosengren SS, Kaplan L, Greenstein RM, Cassidy SB, Benn PA. Comparison of high resolution chromosome banding and fluorescence in situ hybridization(FISH) for the laboratory evaluation of Prader-Willi syndrome and Angelman syndrome. *Am J Med Genet* 1994;52:85-91.
- 27) 양영호, 강지용, 양은석, 장시영, 조재성, 박용원 등. 유전질환 진단에 있어서의 Fluorescence in Situ Hybridization (FISH)법의 임상적 유용성. *대한산부회지* 2002;45:1016-25.
- 28) Evans MI, Sharp M, Tepperberg J, Kilpatrick MW, Tsipouras P, Tafas T. Automated Microscopy of amniotic fluid cell: Detection of FISH signals using the Fast FISH imaging system. *Fetal Diagn Ther* 2006;21:523-7.
- 29) Choolani M, Ho SSY, Razvi K, Ponnusamy S, Baig S, Fisk NM, et al. FastFISH: technique for ultrarapid fluorescence in situ hybridization on uncultured amniocytes yielding results within 2h of amniocentesis. *Mol Hum Reprod* 2007;13:355-9.