

분자 표지자를 포함한 생물학적 표지자

계명대학교 의과대학 병리학교실

이 상 숙

Biologic Markers, including Molecular Markers

Sang Sook Lee, MD

Department of Pathology,
Keimyung University School of Medicine, Taegu, Korea

I. 서 론

두경부암중 가장 흔한 편평상피암은 최근 그 발생빈도가 점차 증가하고 있으나 아직도 치료의 발전이 생존률 증가에 크게 기여하지는 못하고 있는 실정이다. 두경부암의 발암기전의 규명은 치료의 주요한 과제로서 다각적인 측면에서 활발히 연구되고 있으나, 아직도 해결되어야 할 문제가 많다. 발암과정은 발암물질에 반복되어 노출된 영역 전체가 종양으로 변하는 영역 종양화(field cancerization)의 가설아래^{27,29)}, 전암병소로부터 여러 단계를 거쳐 암으로 발전되는 다단계 발암과정(multistep process)이 알려지게 되었다^{8,32)}. 한 두경부의 병소에 여러 개의 독립된 원발암병소가 생기거나, 원발암의 치료후 수년이 경과된 후에 제 2의 원발암이 발생하는 것으로 보아 영역종양화의 존재를 알 수 있다. 발암물질에 노출된 영역에 전암병소가 존재함은 종양이 다단계 과정으로 생김을 시사하고 있다. 두경부의 편평상피암을 예방하고 두경부암의 조기 발견을 위해서는 이 종양의 병인을 깊이 이해하고 종양 발생의 위험성을 인지하기 위한 생물학적 또는 분자 표지자의 개발이 시급한 실정이다^{1,9)}. 이에 저자는 지금까지 알려진 두

경부암의 생물학적 및 분자 표지자를 문헌고찰과 함께 정리하여 보고하고자 한다.

II 두경부암의 생물학적 표지자

두경부암의 생물학적 표지자는 사람 xenobiotic 대사능력과 DNA repair 같은 담배로 인한 손상에 대한 감수성의 측정과 더불어 종양의 유전자 특성과 형태학적 특성, 즉 표현형을 포함한다²⁵⁾. 그러나 생물학적 표지자가 검사자체의 신빙성과 환자의 치료 결정에 어느 정도 영향을 줄 수 있는가 하는데 문제가 제기되고 있지만 두경부암의 극히 초기 변화를 분명히 알려 줄 수 있으리라 전망된다.

암에 걸릴 위험성은 어느 개인이 특별한 화합물에 의해서 노출된 정도를 나타낸다. 이러한 종류의 표지자는 aromatic hydrocarbon이나 tobacco-specific nitrosamine을 포함하는 조직과 DNA adduct의 양을 포함하는데 이러한 생물학적 분석에 가장 예민한 것은 ³²P postlabeling 분석이다^{1,22)}.

가장 전망이 높은 생물학적 표지자는 사람 세포의 손상을 가장 초기에 측정을 할 수 있는 예민한 방법이 될 것이다. 이러한 부류의 접근에 자연 상태의 세포 형광의 측정을 통한 암이 생길 위험성이

있는 조직을 생체내 증명이 포함된다.

생물학적 표지자는 실지로 두경부암의 치료에서 아직 전반적으로 채택되지 않았다. 두경부암에 대한 지식이 늘어감에 따라 암의 이질성의 증가와 함께 암의 진전에 수 많은 요인들이 permutation으로 상호 작용하고 있음을 알게 되었다. 예를 들면 어떤 특별한 표지자는 임파선 전이를 예견할 수 있으나, 반면 어떤 다른 특성은 단지 제한된 역할만 함이 밝혀 졌다. 임상 의사들은 두경부암의 생물학적 측정치가 환자의 치료면에서 보다 암의 예방에 더욱 더 크게 영향을 미칠 거라고 생각하고 있다.

두경부암은 분명히 예방할 수 있는 질환이다. 흡연이 건강에 나쁜 영향을 미친다는 사실을 알고 각자의 행동 습관을 고친다면 두경부암은 아주 급격히 감소할 것이다. 두경부암은 ① 발암물질 노출 ② 발암물질에 의해 유도된 손상에 대한 개체의 감수성 ③ 손상을 대한 암발생 위험성의 극 초기 감지에 의한 개별화에 의해서 가장 영향을 받는다.

1. 노출에 대한 생물학적 표지자

지난 수년동안에 발암물질에 노출의 위험의 정도를 알려주는 생물학적 표지자 분야에 상당한 진보가 이루어졌다. 가장 관심을 끈 표지자는 DNA adduct 양의 측정으로 중간 발암물질이 DNA와 결합하는 능력의 측정에 기초를 두고 있다. 생화학적으로 검출된 담배의 발암물질중 가장 광범위하게 연구되었던 것은 polycyclic aromatic hydrocarbons로서 즉 benzo(a) pyrene이다. Adduct의 양을 측정하는 방법은 면역조직화학기법과 ³²P-postlabeling 분석과 형광 분석이 있는데 그중 ³²P-postlabeling 분석이 가장 예민해서 10¹⁰ nucleotides중 하나의 adduct도 검출할 수 있다. Dunn 등⁷⁾은 처음으로 두경부암환자에서 ³²P-postlabeling 분석에 의해 담배를 피우는 사람은 담배를 피우지 않는 대조군에 비해서 탈락된 점막세포에서 급격하게 증가된 양의 adduct를 발견하여 ³²P-postlabeling 분석의 중요성을 강조하였다. Randerath 등²¹⁾은 후두암 환자의 후두 점막에서 ³²P-postlabeling 분석을 실시한 결과 담배 흡연의 양과 측정된 adduct에 양 사이에는 서로 비례함을 확인하였다. 그리고 담배를 끊음에 따라서 이러한 DNA 손상의 수치가

감소되었으나 adduct는 담배를 끊은 후 14년까지 지속함을 보고하였다.

Stern 등²⁸⁾의 최근 연구에 의하면 adduct양 측정의 분석 결과 후두 조직에 있는 P4501A1 효소의 활성이 높으면 높을수록 DNA adduct양은 더 많아져서 DNA adduct의 양은 P4501A1 효소 활성과 관련된다는 사실을 알게 되었다.

아주 큰 의문 중 하나는 어느 정도 양의 DNA adduct가 실제로 암을 일으키는 위험성을 갖느냐 하는 점이다.

Perera 등²⁰⁾에 의하면 폐암을 가진 사람들은 건강한 사람들에 비해서 높은 치의 benzo(a)pyrene을 가지고 있고 또한 이 수치는 여름에 비해서 겨울에 가장 높아 이러한 계절적 차이를 추운 계절에서 많은 연료의 소비로 인한 환경 공해와 연결시켜 설명하고 있다. 암집단에서 DNA adduct수는 전 인구의 중간치와 유사하거나 중간치 이하로 adduct의 양과 질의 차이에 의해서 암이 있는 사람과 없는 사람과 감별을 할 수는 없음을 알 수 있다. 암집단에서 전반적인 adduct수는 전 인구의 중간치와 유사하거나 중간치 이하로 나타났다.

2. 감수성의 생물학적 표지자

모든 사람들이 유사한 환경 하에서 어떤 병에 걸릴 위험은 각자 다르다. 이것은 담배와 술 소비가 만연한 것에 비해 두경부암의 발생이 비교적 드문 것을 볼 때 쉽게 알 수 있다. 이는 사람마다 고유한 암에 대한 감수성이 있음을 의미한다. 수많은 감수성 요인 중 중요한 사실은 Li-Fraumeni 증후군과 유전성 비용종성 대장암 (HNPCC) 증후군은 관련이 없어 이 두군에서 단지 산발적으로 두경부암이 생김을 보고하였다²⁵⁾.

Watson 등³¹⁾은 HNPCC 환자 가족에서 폐암과 두경부암의 위험성을 검사하였는데 실제 일반 인구집단보다 상당히 낮고 이는 담배 소비와 관련이 없음을 보고하였다. HNPCC 인구의 특성인 genomic microsatellite instability 증거는 두경부암에서 비교적 드물었다¹⁰⁾.

3. 손상의 생물학적 표지자

초기 손상의 표지자를 이용하여 후에 병을 일으

킬 위험성이 높은 사람을 결정하는 연구가 많이 이루어지지 않았다. 이를 위하여 탈락된 세포에 있는 비정상적 keratin을 보기 위한 면역조직화학기법이나 생체에서 점막의 toluidine blue 염색을 이용한다⁶⁾. 최근에 변이를 알아내기 위해서 분자생물학적 방법을 사용한다. Mao 등¹⁶⁾이 분자생물학적 분석을 이용하여 폐암환자의 선별에 적용을 보고하였다. 조기 폐암 검색 연구에 가담한 환자들 중 객담 세포검사로 음성으로 결과가 나왔던 환자가 후에 폐암이 발생한 환자를 선택하였다. 이들 환자의 사전에 음성이라고 판독되었던 저장된 객담 세포 표본중 다수에서 p53 나 ras 변이를 실제로 갖고 있음이 판명되었으며 이러한 환자들의 거의 대부분은 암조직에서도 객담의 세포학적 표본에서 발견된 것과 같은 동일한 변이를 보였다. 이러한 분자 세포학적 기법은 일반적인 세포학적 검사보다 확실히 더 예민하고 매우 특이하여 임상적으로 암이 나타나기 전단계를 인지할 수 있다.

상부 기도와 소화기 점막에 있는 초기 변화를 검색하는데 부가적으로 사용하는 방법은 native cellular fluorescence(NCF)로 세포들이 본래 가진 특별한 파장의 빛을 흡수하고 발산하는 형광 능력을 의미한다²⁴⁾. 이것은 여러 가지 보효소, 단백질과 미세영양분과 같은 여러 fluorophores의 양적 및 질적 상태를 광학과 컴퓨터 기법을 통해서 생체에서 측정할 수 있어 폐와 췌장과 자궁경부와 두경부에 있는 여러 종양 조직에서 특징적인 NCF를 보여 주었다^{12,15)}. 아마 이 방법은 분자학적 세포학처럼 다른 방법에 보조적으로 사용될 것 같다. 실제로 NCF 외형에 영향을 미치는 생화학적 양상은 변이에 선행하고 이를 촉진시킨다고 제시되고 있다.

III. 두경부암 발생과 수반된 유전학적 변화: 분자 표지자

1. 암의 유전적 기초

일반적으로 암은 유전자의 변경의 축적으로 인해 발생하고 세포 성장의 조절 상실에 따라 침윤과 전이하는 능력을 갖게 된다. 하나의 두경부 점막세포

가 염색체 7번 내지 10번 변이가 생기면 편평상피암으로 된다²³⁾. 이러한 변이들은 세포의 주요한 기능 즉 cell cycle 조절에 영향을 미친다⁹⁾. 가능성있는 암유전자과 종양 억제유전자의 변이가 축적되어 중대한 세포의 통로(critical cellular pathway)의 기능에 변화를 주어 악성 변형된다고 알려져 있다. 변이가 계속되면 세포의 성장에 도움을 주어서 clonal expansion이 생기고 더욱 변경된 subclone의 과도한 성장을 초래한다. 실제의 유전자의 변경과 한 개의 종양에서 생기는 이러한 변이의 순서는 두경부 편평상피암에서 매우 다양해서 아주 다양한 임상 양상을 설명할 수 있다고 생각된다.

이상적인 표지자는 반드시 특이하고 예민하고 측정하기 쉬워야 한다. 이러한 높은 질의 표지자는 암의 선별과 감시(surveillance)에 사용할 수가 있고 치료의 효능 측정, 및 치료 방법과 예후를 제시하는데 사용될 수 있다¹⁴⁾.

두경부 편평상피암에서 흔히 변이된다고 알려진 후보 종양 표지자는 p53과 소수의 종양에서 증폭되는 염색체 11q13에 위치한 PRAD-1이다. PRAD-1은 소수의 종양에서 증폭되나 sequence의 변경은 초래하지 않는다^{7,17)}. p53 유전자는 모든 두경부 편평상피암에 45%에서 변이를 일으킨다³⁾. p53의 변이는 신선한 조직에서 PCR을 사용해서 DNA를 증폭하고 난 다음에 직접 sequence함으로써 곧 검색할 수 있다. 두경부 편평상피암에 관련되는 다른 표적 유전자의 정체는 현재 모른다.

Knudson의 가설에 의하면 종양 억제 유전자의 하나의 copy가 변이에 의해서 변경되면 나머지 정상적 copy는 결손에 의해서 흔히 불활성화된다¹³⁾. 두경부 편평상피암 표본 집단에서 각각의 체세포 염색체 팔에 있는 allelic loss (loss of heterozygosity, LOH)를 선별함으로써 유전자에 가장 흔히 변경이 일어나는 부위의 지도를 만들 수 있다¹⁸⁾. 이러한 접근을 이용해서 염색체 1p, 3p, 4q, 6p, 8, 9p, 11q, 13q, 14q, 17p, 18q의 LOH 자리를 주로 연구되었다. 이러한 자리에 있는 후보가 되는 종양억제 유전자, 예를 들면 13q에 있는 RB (retinoblastoma) 유전자와 17p에 있는 p53 같은 지역이 알려졌다. 이러한 위치의 아주 작은 지역을 정교한 염색체

mapping과 유전자 walking에 의해서 알아낸다면 새로운 표적 유전자를 발견할 수 있을 것이다.

2. 유전자 변경의 순서-종양 진행 모델

두경부 편평상피암의 임상적인 암 전기 병소가 잘 알려져 있고 이것은 이형성(dysplasia)과 상피내암(carcinoma in situ)를 포함한다. 과형성(hyperplasia)과 atypia는 암 전기병소로서 확실하지 않다. 몇몇의 침윤성 두경부 편평상피암은 임상적으로 분명한 전기 병소가 없이 저절로 생기는 것 같다. 어떤 암 전기 병소에서 유전자 변경을 보이는 집단의 빈도를 측정하고 이 자료를 침윤성 두경부 편평상피암과 비교함으로써 이러한 유전적 변화에 순서를 알 수 있다²⁷⁾. 9p의 LOH와 같은 유전적 사건은 이형성병소에서 아주 높은 빈도로 생기는데 침윤성 암에서는 큰 빈도로 생기지 않아서 아마 초기 변화로 생각된다³⁰⁾. p53 변이는 임상적으로 암이 진전함에 따라 빈도가 증가되어서 중간 또는 후기 변화로 알려져 있다. 이렇게 다양한 임상적인 적응을 위한 유전적 표지자, 즉 분자표지자를 선택할 때 종양의 집단에서 일어나는 사건의 비교적적인 시간을 고려해야 한다.

이러한 악성 변화 과정에서 초기에 생기는 유전자의 변화는 위험에 노출된 점막의 표지자가 되고 예방 화학요법 시험의 효능을 모니터하는데 유용하다. 이러한 과정 중에 후기에 생기는 변이는 중요한 예후에 대한 정보를 제공해서 유전자 치료의 표적으로 사용할 수 있다. 종양 진행 모델의 유효성은 한 표본에서 조직학적으로 분명히 다른 지역을 대상으로 연구를 하거나 아니면 한 각각의 임상적인 병의 진전을 경험했던 환자에서 시간에 따른 연속 생검 표본에서 연구가 가능하다¹⁴⁾. 한 종양에 조직학적으로 분명한 다섯 부위 중 네 곳의 임상적으로 더욱 진전된 자리에서 LOH가 더 많이 발견되었다. 많은 microsatellite 표지자를 사용한 정교한 mapping에 의해서 LOH가 검색되어 얻어진 breakpoint의 위치는 한 환자에서의 두 개의 표본사이 에 clonal 한 관계에 대한 좋은 증거로 작용한다. 여러 시간을 두고 한 명의 환자에게서 나온 연속 표본을 보면 병의 임상적인 진전과 부합되는 유전자적 진행 즉 더욱 더 많은 자리의 LOH를 보여 주었다.

3. 동물실험 모델에서 유전학적 종양 표지자

저자는 7,12-dimethylbenz(a)anthracene(DMBA)로 유도된 햄스터 협낭암 모델을 이용하여 암 발생 과정동안 조직학적 변화와 분화 정도에 따른 p53 단백질, EGFR 단백질 및 PCNA(proliferating cell nuclear antigen)의 역할을 규명하기 위해 면역조직화학기법을 사용하여 검색하였다^{33,34)}. 햄스터의 우측 협낭에 1주에 3회씩 DMBA(05%)를 heavy mineral oil에 희석하여 16 주동안 도포하였다. 현미경 소견상 DMBA 도포후 4 주째 점막상피의 과형성, 8주째 이형성과 함께 유두상 돌기가 관찰되었고 16주에 이르면 편평상피암이 발생하였다. 각 시기별로 점막의 병변을 절제하여 포르말린으로 고정하고 파라핀으로 포매한 조직을 연구대상으로 각 단백질의 단클론 항체를 사용해서 면역조직학적 검색을 실시하였다. p53 단백질의 발현은 과형성 시기부터 나타나 이형성을 거쳐 편평상피암으로 진행할수록 빈도가 증가되어 비교적 초기발생부터 암의 진전에 관여함을 알 수 있었다. 세포의 증식능을 알 수 있는 PCNA 단백질은 전기암 병소보다 편평상피암에서 많이 발현되어 병변의 진행에 따라 세포의 증식능도 함께 증가함을 알 수 있었다. EGFR 단백질은 과형성, 이형성과 침윤성 편평상피암으로 발전할수록 점차 그 양 및 분포가 점막의 상부로부터 하부층으로 확대되었다. 이러한 결과를 종합하면 p53 단백질과 PCNA 및 EGFR 단백질의 조직내 분포와 양이 두경부암의 전기단계 인지와 함께 두경부암의 재발이나 제2원발암의 발생 위험도를 측정할 수 있는 한 생물학적 표지자로 사용할 수 있으리라 생각된다. 또한 햄스터 협낭암 모델에서와 함께 사람의 구강암 발생에 따른 임상 시험에서도 다양한 예방적 차원의 화학요법 사용의 중간 시점을 결정하는데 적용할 수 있으리라 기대된다.

4. 분자 표지자 즉 유전학적 종양 표지자의 임상적 응용

A 종양의 수술연과 타액에서의 p53 변이

종양이 p53 변이를 갖고 있을 때 radio-labeled oligomeric probe (18-20 base)를 사용해서 stringent 조건하에서 mutated sequence를 특별히 anneal 시킴으로서 현미경 검색에서 암 세포를 발

견 못한 경우에도 본래 종양에서와 같은 변이를 가진 아주 드문 세포들은 검색하는데 사용될 수 있다. 이런 분자학적 probing은 p53변이가 있는 암세포를 검색할 수 있어 광학현미경보다 100 배 더 예민하다. Brennan 등⁴⁾의 연구에 의하면 후두암 수술 환자 25명을 대상으로 절제된 후두암조직의 수술 가장자리에서 암 세포를 발견하기 위한 분자생물학적 검색을 실시했는데 광학현미경검색으로 암세포가 발견되지 않은 수술 가장자리 조직의 DNA를 추출하고 PCR로 증폭시켜서 oligomer로 관찰한 결과 13명에서 적어도 한 곳에서 암세포를 가진 증거가 발견되었다. 이 13명중 5명은 수술후 24 개월에 수술 부위에 암의 국소 재발을 보였다. 나머지 3명은 양성을 보였던 그 자리에 일치하여 국소 재발하였다. 나머지 5명중 4명이 수술후 방사선 치료에도 불구하고 재발이 생겼으나, 대조적으로 p53 변이가 없었던 12명의 환자에서는 전혀 국소적인 재발이 없었다. 분자학적 분석에 사용했던 조직을 다시 조직병리학적 방법으로 재검색한 결과 변이를 가진 세포의 농도가 분자학적 probing으로 5% 이상인 경우에 광학현미경상 암세포가 발견되었다. 반면 분자학적 probe 기법을 사용하면 001%의 암세포만 있어도 검출할 수 있다.

종양의 특이한 변이를 oligomeric probe를 사용해서 검색하는 방법은 임상적으로 다양하게 응용할 수 있다. 예를 들면 입속을 씻어낸 물이나 수술로 절제하기 전에 닦아낸 탈락된 세포에서 7예중 5예에서 변이를 가진 세포를 발견할 수 있었다²⁾. 이러한 방법을 이용하면 성공적인 치료 후에 종양의 감시에 유용하게 쓸 수 있다. 항암 요법이나 방사선 치료에 완전한 반응을 보인 후에 얻은 생검 표본에서도 암세포 유무를 확인하기 위해서 분자학적 probing으로 검색할 수 있다.

B. p53 변이가 없을 때 유전학적 표지자로 LOH의 사용

p53 변이를 표지자로 사용하는 것은 모든 두경부 편평상피암의 반 이하에서 적용할 수 있다. 그러나 대부분의 종양은 적어도 한 자리의 LOH를 가지고 있는데 이는 유전자를 통해서 분포하고 있는 microsatellite repeat sequence의 분석에 의해서 알 수

있다. 종양의 특이한 염색체의 결손은 육안적인 병변을 발견하기 전에 암세포를 알아내는데 사용할 수 있다. 이것을 행하기 위해서는 말초 혈액의 백혈구 같은 정상적인 세포에서 얻은 DNA를 특별한 종양 형에서 LOH를 가지고 있다고 알려진 여러 부위에서 얻어진 생검이나 탈락된 세포의 블록 같은 임상 표본의 DNA와 비교한다. 고도로 polymorphic microsatellite repeat sequence가 각 위치에서 증폭된다. 만약 종양이 한 allele을 소실하였거나 변형을 일으켜서 새로운 수의 repeat sequence를 초래한다면 그후 이 표본은 정상 말초 혈액의 백혈구 DNA와는 다른 banding 양상을 Southern blot에서 보이게 된다.

한 panel의 microsatellite 변형이 오줌의 탈락된 세포에서 방광암의 세포학적 증거가 나타나기 전에도 방광암을 알아내는데 유용하게 쓰일 수 있다¹⁷⁾. 이러한 전략의 응용은 상기도의 암에서는 구강이나 목에서는 정상적인 세포가 방광에서보다 더 많은 수가 탈락되기 때문에 문제가 된다. 암세포의 분자학적 검색 방법이 두경부 편평상피암의 유용한 선별 검사로 개발되기 전에 이런 점을 해결하여야 한다.

5. 두경부 편평상피암의 예후 인자로서의 유전학적 변경

두경부 편평상피암의 유전학적 변경에 따른 환자의 예후에 영향을 미치는 의미에 대하여 많이 보고되었다. 거의 모든 예에서 유전자 변경의 한 척도로서 p53 단백질의 과발현을 관찰하였다. 정상적인 p53 단백질은 반감기가 짧아 면역조직화학기법에 의해 세포에 발색되지 않는다. p53에 변이가 생기면 단백질의 형태적 변화를 초래해서 단백을 안정화시켜서 면역조직화학기법에 의해 종양세포의 핵에 주로 발색된다. 그러나 이 방법의 정확성은 변이로 인해서 단백질 합성되지 않는 경우 생기는 위음성율에 의해서 감소된다. 그밖에 면역조직화학기법을 수행하는 기술적인 방법과 양성으로 판단되는 염색의 판정 기준이 결과에 중요한 영향을 미친다. 이러한 보고들은 임상적인 결과에 p53의 영향의 유무와 효과 없음으로 나타내었다. p53 변경에 따른 영향을 더욱더 엄격하게 검색하기 위하여 p53 유전

자의 상태는 직접 유전자 sequencing에 의해서 결정되어야한다.

여러 부위에서 LOH의 임상적인 관련성이 연구되었는데 하나의 유전자의 결손이 정확하게 임상적인 성적을 예견한다는 것은 아마 낙관적이다. 많은 환자를 사용해서 LOH에 전면적 스펙트럼을 분석하는 것이 이러한 위치가 예후에 유용한지 아닌데 필요하다. 그밖에 각각의 새로운 종양 억제 유전자나 암유전자가 발견되어 두경부 편평상피암에서 앞으로 유용한 분자 표지자로서 탐색에 검토되어야한다.

결론

두경부암은 예방할 수 있는 질환이다. 두경부암은 ① 발암물질 노출 ② 발암물질에 의해 유도된 손상에 대한 개체의 감수성 ③ 손상을 대한 암발생 위험성의 극 초기 감지에 의한 개별화에 의해서 가장 영향을 받게 된다. 두경부의 편평상피암을 예방하고 두경부암의 조기 발견을 위해서는 이 종양의 병인을 깊이 이해하고 종양 발생의 위험성을 인지하기 위한 생물학적 또는 분자 표지자의 개발이 진행중에 있다. 그러나 생물학적 표지자가 검사자체의 신빙성과 환자의 치료 결정에 어느 정도 영향을 줄 수 있는가 하는 데 문제가 제기되고 있지만 두경부암의 극히 초기 변화를 분명히 알려 줄 수 있으리라 기대되어 두경부암의 생물학적 측정이 환자의 치료면에서 보다는 암의 예방에 더욱더 크게 영향을 미칠 거라고 생각된다. 또한 높은 질의 생물학적 및 분자 종양 표지자가 개발되어 암의 선별과 감시(surveillance) 및 치료의 효능 측정, 및 치료 방법과 예후를 제시하는데 사용될 수 있으리라 전망된다.

References

1. Beach AC, Gupta RC: *Human biomonitoring and the ³²P-postlabeling assay. Carcinogenesis 13:1053-1074, 1992*
2. Boyle JO, Mao L, Brennan JA, et al: *Gene mutations in saliva as molecular markers*

- for head and neck squamous cell carcinomas. *Am J Surg 168:429-432, 1994*
3. Boyle JO, Hakim J, Koch W, et al: *The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer. Cancer Res 53:4477-4480, 1993*
4. Brennan JA, Mao L, Hruban RH, et al: *Molecular assessment of histopathologic staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck. New England J Med 332:429-435, 1995*
5. Callender T, El-Naggar AK, Lee MS, et al: *PRAD-1 (CCND1)/ cyclin D1 oncogene amplification in primary head and neck squamous cell carcinoma. Cancer 74:152-158, 1995*
6. Cooper MP, Braakhuis JM, DeVries N, et al: *A panel of biomarkers of carcinogenesis of the upper aerodigestive tract as potential intermediate endpoints in chemoprevention trials. Cancer 71:825-830, 1993*
7. Dunn BP, Stich HF: *³²P-postlabeling analysis of aromatic DNA adducts in human oral mucosal cells. Carcinogenesis 7:1115-1120, 1986*
8. Farber E: *The multistep nature of cancer development. Cancer Res 44: 4217-4223, 1984*
9. Hartwell, LH, Kastan, MB: *Cell Cycle Control and Cancer. Science. 266:1821-1828, 1994*
10. Ishwad CS, Ferrell RE, Rossie KM, et al: *Microsatellite instability in oral cancer. Int J Cancer 64:332-335, 1995*
11. Jares P, Fernandez PL, Campo E, et al: *PRAD-1/Cyclin D1 gene amplification correlates with messenger RNA overexpression and tumor in human laryngeal carcinomas. Cancer Res 54:4813-4817, 1994*
12. Karpadia CR, Sutruzola FW, O'Brian

- KM, et al: *Laser-induced fluorescence spectroscopy on human colonic mucosa. Gastroenterology* 99:150-157, 1990
13. Knudson AG: *Antioncogenes and human cancer. Proc Natl Acad Sci* 90:10914-10921, 1993
 14. Koch WM: *Genetic alterations associated with head and neck carcinogenesis: Intermediate markers in clinical trials. Proceedings for 4th Conference on Head & Neck Cancer, 1996*
 15. Kolli V, Savage HE, Yao TJ, Schantz SP: *Native cellular fluorescence of neoplastic upper aerodigestive mucosa. Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 121:1287-1292, 1995
 16. Mao L, Hruban RH, Boyle JO, Tockman M, Sidransky D: *Detection of oncogene mutations in sputum precedes diagnosis of lung cancer. Cancer Res* 54:1634-1637, 1994
 17. Mao L, Schoenberg MP, Scicchitano M, et al: *Molecular detection of primary bladder cancer by microsatellite analysis. Science* 271:659-662, 1996
 18. Nawroz H, van der Riet P, Hruban R, Koch W, Sidransky D: *Allelotype of head and neck squamous cell carcinoma. Cancer Res* 54:1152-1155, 1994
 19. Perera FP, Hemminki K, Gryzbowska E, et al: *Molecular and genetic damage from environmental pollution in Poland. Nature* 360:256-258 1992
 20. Perera FP, Mayer J, Jaretzki A, et al: *Comparison of DNA adducts and sister chromatid exchange in lung cancer cases and controls. Cancer Res* 49:4446-4451, 1989
 21. Randerath E, Miller RH, Mittal D, et al: *Covalent DNA damage in tissues of cigarette smokers as determined by ³²P-postlabeling assay. J Natl Cancer Inst* 81:341-347, 1989
 22. Randerath K, Reddy MV, Gupta RC: *³²P-postlabeling test for DNA damage. Proc Natl Acad Sci USA* 78:6126-6129, 1981
 23. Renan MJ: *How many mutations are required for tumorigenesis? Implications from human cancer data. Mol Carcinog* 7:139-146, 1993
 24. Schantz SP, Alfano RR: *Tissue auto-fluorescence as an intermediate endpoint in chemoprevention trials. J Cell Biochem Supp* 17F: 199-205, 1993
 25. Schantz SP: *The challenge of tumor markers. Proceedings for 4th Conference on Head & Neck Cancer, 1996*
 26. Sidransky D: *Molecular markers in head and neck cancer. Proceedings for 4th Conference on Head & Neck Cancer, 1996*
 27. Slaughter DL, Southwick HW, Smejkal W: *"Field cancerization" in oral stratified squamous epithelium: Clinical implications of multicentric origin. Cancer* 6: 963-968, 1953
 28. Stern SJ, Degawa M, Martin MV, et al: *Metabolic activation, DNA adducts, and H-ras mutations in human neoplastic and non-neoplastic laryngeal tissue. J Cell Biochem Supp* 17F:129-138, 1993
 29. Strong MS, Inceze J, Vaughan CW: *Field cancerization in the aerodigestive tract: its etiology, manifestation, and significance. J Otolaryngol* 13: 131-136, 1984
 30. van der Riet P, NawrozM, Hruban RH, et al: *Frequent and early loss of chromosome 9p21-22 in head and neck cancer progression. Cancer Res* 54:1156-1158, 1994
 31. Watson P, Lynch HT: *Extracolonic cancer in hereditary non-polyposis colorectal can-*

- cer. Cancer* 71:677-685, 1993
32. Weinberg R: *Oncogenes, antioncogenes, and the molecular basis of multi-step carcinogenesis. Cancer Res* 49: 3713-3721, 1989
33. 박준식, 손수준, 이상숙: DMBA로 유발된 hamster 협낭의 구강암조직에서 in situ reverse transcriptase PCR 기법에 의한 EGFR mRNA의 발현. *대한이비인후과학회지* 40: 217-228, 1997
34. 박준식, 이상숙, 사민강: 7,12-Dimethylbenzanthracene로 유도된 햄스터의 협낭암모델에서 p53 변이 단백질의 발현과 proliferating cell nuclear antigen에 의한 세포증식능의 변화. *대한이비인후과학회지* 38: 1380-1391, 1995