

두경부 다발암의 발암기전: 영역암발생과 클론 확산의 개념

고려대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실

최 건

Carcinogenesis of Mutiple Primary Cancer of Head and Neck: Field Cancerization versus Clonal Extension

Geon Choi, M.D.

Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery,
Korea University College of Medicine, Seoul, Korea

I. 서 론

두경부에 발생하는 편평세포암종(squamous cell carcinoma)의 임상적 특성의 하나는 다발암(multiple primary cancer)이 흔히 발생하는 것으로, 임상적으로 진단시에 상부 기식도관(upper aerodigestive tract)에 정상 점막을 사이에 두고 서로 떨어져서 중복으로 발생하는 동시기암(synchronous cancers)과 두경부 편평세포암종 환자를 적극적으로 치료하여 임상적으로 치료가 되어 인체내에 암세포가 제거되었다고 판단되었음에도 불구하고 수년 후 타부위의 상부 기식도관에 새로운 편평세포암종암이 발생하는 이시기암(metachronous cancers)으로 나눌 수 있다¹⁾. 두경부암에서 다발암의 발생이 높은 이유는 술과 담배와 같은 발암 물질이 상부 기식도관의 일정한 부위에만 노출되는 것이 아니라 상부 기식도관 전체에 노출되므로 이들 발암물질에 노출된 상부 기식도관의 점막에서 유전자 및 염색체의 손상이 축적되므로 여러 곳의 점막에서 암이 쉽게 발생할 수 있다는 개념으로 설명되었으며, 이러한 개념을 영역암발생(field cancerization)이라 한다^{2,3)}.

한편 최근에는 두경부 편평세포암종에서 다발암이 발생하는 이유로 유전자 및 염색체의 손상이 축적되어 암으로 변형된 클론(clone)이 점막하(submucosal spread) 또는 타액등에 의해 타부위 점막으로 퍼져서 원발암과는 떨어진 타부위의 상부 기식도관의 점막에서 암으로 진행하거나 원발암의 치료시에 제거되지 않은 다른 부위에 남아 있던 클론이 다시 자라서 발생하므로 이들 다발암이 원발암에서와 동일한 클론에서 기원한다는 클론확산(clonal extension)의 이론도 제시되고 있다^{4,6)}.

정리하면 다발암의 기원을 영역암발생의 개념으로 설명되는 다른 클론기원설(different clonal origin)과 클론확산의 개념으로 설명되는 공동 클론기원설(common clonal origin)로 대립되어 있으나 어떠한 이론이 이차암의 발생 기전을 올바르게 설명하는지는 현재까지 판명되지 않았다. 이들 두 가지 이론을 이해하는 것은 두경부암의 치료 실패의 생물학적 특성을 이해하고 환자를 치료하는데 도움을 줄 것으로 생각되며, 따라서 이러한 두가지 이론에 관한 지금까지의 연구를 고찰하고 이들 이론의 확립이 임상적으로 어떠한 의미를 지니는가를 살펴 보고, 본 교실에서 시

행하고 있는 연구들을 소개하고자 한다.

II. 다발암의 기원 (Origin of cancer)

암의 기원, 즉 암의 클론성(clonality)에 관한 논란, 즉 암으로 변환되는 세포가 하나의 세포에서 (단일 클론, monoclonal) 시작되는지 또는 여러 개의 세포(복수클론, multiclonal)에서 동시에 변형되는지는 여성에서 X 염색체 표지 효소(X-linked marker enzyme)⁷⁾의 이종접합성(heterozygosity)이나 X 염색체의 불활성(X-chromosome inactivation)의 방법⁵⁾으로 알 수 있으며, 대부분의 인체 암이 단일 클론에서 기원하는 것으로 밝혀졌다^{8, 10)}.

상부 기식도관에 발생하는 편평세포암도 단일 클론에서 기원하는 것으로 밝혀졌으나⁵⁾, 두경부에 발생하는 동시기암과 이시기암을 포함한 다발암의 발생 기원에 관하여는 논란이 지속되고 있다. 즉 두경부 편평세포암이 각 부위에서 발생할 때 단일 클론에서 기원하는 것에 관하여는 논란의 여지가 없으나, 서로 다른 부위에 발생하는 다발암의 경우 각각의 부위에서 서로 다른 세포에서 암의 발생이 시작하므로 서로 다른 부위의 종양이 서로 다른 클론이라는 영역암발생을 지지하는 다른 클론기원설과 한 부위에서 기원한 세포가 점막하를 통하여 다른 부위로 퍼지거나 타액을 통하여 다른 부위로 과급된 클론이 새롭게 자라서 종양이 형성되었다는 클론확산을 지지하는 공동 클론기원설이 대립되고 있다.

영역암발생을 뒷받침하는 연구는 주로 임상적인 연구가 주를 이루었으나 분자생물학적 연구로 Chung¹¹⁾은 31명의 두경부 다발암 환자에서 서로 다른 부위의 암에서 p53의 변이를 single strand conformation polymorphism법과 염기서열법을 사용하여 p53의 변이 여부와 변이된 부위를 분석한 결과 p53의 변이가 있었던 21례 중 5례에서는 일차암과 이차암 모두에서 변이가 있었으나 일차암과 이차암이 서로 다른 변이가 관찰되었고, 8례에서는 일차암에서만 변이가 관찰되었고, 나머지 8례에서는 이차암에서만 변이가 관찰됨으로써 일차암과 이차암은 서로 다른 클론에서 기원한다고 하여 영역암발생을 처음으로 분자생물학적으로 증

명하였다고 주장하였다. 또한 Nees¹²⁾은 15례의 두경부 편평세포암종 환자에서 종양과 종양 주변의 병리조직학적으로 정상인 여러 부위의 점막에서 면역조직화학적 염색과 single strand conformation polymorphism법을 사용하여 p53의 변이를 관찰하여 종양 외에도 종양과 멀리 떨어진 병리조직학적으로 정상인 여러 부위의 점막에서도 종양과는 다른 p53의 변이가 발견되므로서 이러한 유전형의 변화가 두경부 다발암 발생의 분자생물학적 기초가 되며 영역암발생의 하나의 증거라고 하였다.

한편 Sidransky¹³⁾은 최초로 다발암의 기원에 대한 개념을 여러 곳의 점막에서 서로 다른 암이 발생한다는 영역암 발생의 개념에서 벗어나서 암의 발생은 많은 유전자 및 염색체등의 결손의 축적으로 인하여 이러한 결손은 쉽게 일어나는 것이 아니기 때문에 여러 점막에서 암의 발생은 거의 불가능하며 한 곳에서 이미 암으로 변형된 세포 즉 클론이 다른 부위의 점막으로 확산하여, 확산된 클론에서 암의 성장이 이루어 지므로 다발암으로 나타나게 된다는 가설하에 4례의 여성의 방광에서 발생한 다발암에서 X 염색체 불활성의 형태를 검색한 결과 각각 환자의 다발암에서 동일한 형태의 X 염색체의 불활성을 보였고, 9번 염색체의 장완에서 동일한 대립 유전자의 손실(allelic loss)을 증명하여 방광암에서의 다발암이 하나의 변형된 세포가 확산되어 발생하는 것으로 주장하였다. 또한 이들의 다른 연구⁵⁾에서는 8례의 여성에서 발생한 18개의 두경부 다발암에서 4례의 각각의 다발암에서 동일한 형태의 X 염색체 불활성을 보였고, 두경부 편평세포암종의 암화 과정에서 초기의 변화 중 하나인 염색체 9p21과 3p의 대립 유전자의 손실을 microsatellite analysis를 이용하여 조사한 결과, 9례 중 3례에서 같은 형태의 이종접합체 상실(loss of heterozygosity)을 보였고 2례에서 9p에서 동일한 파단점(breakpoint)을 보였으며 동시에 염색체 3p에서 동일한 microsatellite alteration이 있어 이들 종양이 동일한 클론에서 기원함을 알 수 있어, 적어도 두경부암에서 발생하는 다발암의 일부가 동일한 클론에서 기원한다고 주장하였다. 클론 확산을 지지하는 또 다른 연구로 Worsham⁶⁾은 2

명의 두경부 다발암에서 핵형분석(karyotypes)과 fluorescence in situ hybridization 법을 사용한 분석에서 이차암과 이차암이 공동의 클론에서 기원하였다는 보고를 하였다.

III. 영역암 발생과 클론확산의 임상적 의의

상부 기식도관(upper aerodigestive tract)에 발생하는 두경부 편평세포암종은 공중 보건에 심각한 위협을 주고 있으나¹⁴⁾, 과거 20년간 수술 방법, 방사선 치료, 항암 화학요법의 발전에도 불구하고 두경부 편평세포암종 환자의 장기 생존율에는 괄목할 만한 증가가 없었다¹⁵⁾. 두경부에 국한된 암의 적극적인 치료 후에 실패하는 양상을 보면 1) 국소 재발, 경부 재발, 원격 전이와 같이 원발암이 치료 후에 잔존하여 재발하는 경우와 2) 치료 후에 인체 내에 암세포가 없어져도 이차암이 새롭게 발생하여 실패하는 경우로 나눌 수 있다¹⁶⁾. 이러한 이차암의 발생은 원발암의 병기에 관계 없이 장기 생존자(long-term survivor)에서 연간 4% - 7%에서 발생하는 것으로 보고되고 있다^{16,17)}. 임상적으로 이러한 이차암을 예방하려면 이차암의 발생할 가능성이 높은 환자군을 선별하여^{18,19)}, 화학 예방요법(chemoprevention)등을 시행하는 것이 필요하다. 실제 두경부암 환자의 적극적인 치료로 질병이 완치된 환자를 13 cis-retinoic acid를 사용한 군과 위약(placebo)를 사용한 군을 비교한 결과 재발에서는 차이가 없었으나 이차암의 발생에 있어서는 13 cis-retinoic acid를 사용한 군에서 위약(placebo)를 사용한 군에 비하여 유의하게 이차암의 발생이 감소하였다는 보고가 있다²⁰⁾.

이상과 같은 두경부 다발암의 이해와 치료는 영역암발생의 개념의 기초하에 이루어지고 있는 임상시도이지만 최근에 두경부 다발암의 기원이 클론확산이란 개념이 도입되면서 Brennan등⁴⁾은 병리조직학적으로 절제연이 정상(negative surgical margin)이었던 25례의 두경부 편평세포암종 환자에서 절제연에서 p53의 변이를 검색하였다. 이중 13례에서 분자생물학적 검색에서 한 군데 이상에서 p53의 변이가 관찰되었으며, p53의 변이가 관찰된 13례 중 5례에서 추적관찰 중 국소재발이 있었

던 반면 p53의 변이가 없었던 12례에서는 재발된 예가 없었다. 따라서 병리조직학적으로 발견되지 않은 변형된 클론의 확산을 분자생물학적 방법으로 검색하므로써 국소 재발의 가능성을 예견하고 이러한 환자에서 보다 적극적인 보조치료를 시행함으로써 생존율을 높이는 데 도움이 된다고 보고하였다.

IV. 본 교실에서의 연구

두경부 다발암의 기원의 개념이 영역암발생인지 클론 확산인지의 개념의 정립은 두경부의과의가 두경부암의 생물학적 성상을 이해하고 환자를 접근하고 치료하는데 중요하다. 본 교실에서 시행하였던 이에 연관된 연구를 소개하고자 한다.

1. 두경부 편평세포암종에서 7번 및 17번 염색체의 다염색체 소견¹⁹⁾

19례의 두경부 편평세포암종 환자에서 수술시 종양, 병리조직학적으로 정상인 절제연 및 협부 점막과 대조군(6명의 흡연자 및 6명의 비흡연자)의 협부 점막을 채취하여 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매한 조직에서, 7번 및 17번의 염색체 중심질의 probe를 사용하여 non-fluorescent, non-isotopic in situ hybridization을 실시하여 이들에서 3개 이상의 신호 즉 다염색체 소견을 보이는 세포핵을 검색하였다(Fig. 1, Fig. 2). 결과는 흡연자 및 비흡연자의 협부 점막에서 7번 및 17번 염색체의 다염색체 소견의 차이는 없었고, 7번 및 17번 염색체의 다염색체 소견은 종양에서 절제연(각각 $p < 0.001$) 및 종양 환자의 협부 점막(각각 $p < 0.001$) 또는 대조군의 협부점막에 비하여 높았다(각각 $p < 0.001$). 또한 7번 및 17번 염색체의 다염색체 소견은 절제연에서 협부점막에 비하여 높았고(각각 $p < 0.001$), 대조군(각각 $p = 0.002$, $p < 0.001$)에 비하여도 높았다. 한편 환자의 협부점막과 대조군의 협부 점막에서 다염색체 소견의 차이는 없었다(Table 1). 결론적으로 종양의 인접 점막의 유전형의 이상은 두경부 편평세포암에서 적극적인 치료 후 이차암이나 국소재발을 예견하는 지표로서의 가능성을 제시하였으나 종양의 인접점막에서의 다염색체 소

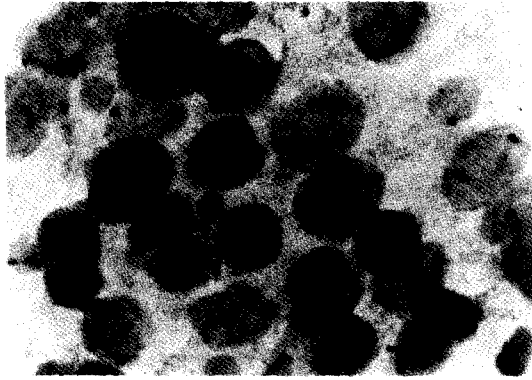


Fig. 1. Chromosome 17 in situ hybridization signals in the histologically normal epithelium that is adjacent to the tumor. Most nuclei show 0, 1, or 2 signal(s), whereas occasional nuclei show 3 signals (Wright stain, original magnification x 1000).

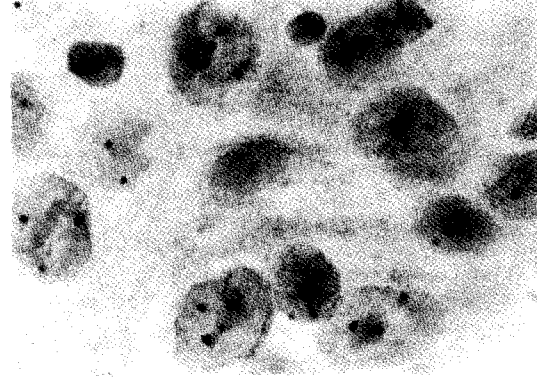


Fig. 2. Chromosome 7 in situ hybridization signals in tumor cells. Frequently, 3 or more signals were seen in the nuclei (Wright stain, original magnification x 1000).

Table 1. Proportion of polysomies of chromosome 7 and 17 for the tumor tissue, TAE, and TDE of patients and buccal epithelia of control group

Sample	Chromosome 7 (%)	Chromosome 17 (%)
Control group		
Smoking (n-6)	3.08 ± 0.80	2.67 ± 0.75
Nonsmoking (n-6)	3.17 ± 1.29	1.67 ± 1.08
Smoking and Nonsmoking (n-12)	3.12 ± 1.03	2.17 ± 1.03
Tumor tissue (n-19)	21.17 ± 7.79	22.17 ± 8.13
TAE (n-19)	6.61 ± 3.50	7.13 ± 5.08
TDE (n-19)	2.53 ± 1.84	2.16 ± 2.33

TAE: tumor-adjacent epithelia. TDE: tumor-distant epithelia
All values are given as mean ± SD.

건의 증가는 영역암발생이나 칼슘화산의 개념으로 설명될 수도 있어 이러한 방법으로 영역암발생이나 칼슘화산 중 어느 개념을 지지하는 소견으로는 판단하기는 무리가 있다고 생각된다.

2. 두경부 편평세포암종에서 제 17번 염색체의 다염색체 소견이 재발에 미치는 영향에 관한 연구²¹⁾

두경부 편평세포암종에서 종양과 절제연에서 17번 염색체의 다염색체 소견이 재발 가능성을

예견하는 표지자로서의 가치가 있는지를 알아보고자, 두경부 편평세포암종 환자의 수술시 병리조직학적으로 절제연이 정상이었던 42례의 두경부 편평세포암종 환자에서 적출된 종양과 절제연에서 17번 염색체 중심점의 probe를 사용하여 non-flouorescent, non-isotopic in situ hybridization을 실시하여 이들에서 3개 이상의 신호 즉 다염색체 소견을 보이는 세포핵을 검색하였다. 종양 및 절제연에서 다염색체 소견에 따른 양성군과

Table 2. Int-2 amplification by in situ hybridization for the tumor tissue, TAE, TDE of patients and buccal epithelia of control group

	No. of cases (%)				
	Patients			Control group	
	Tumor	TAE	TDE	Smokers	Non-smokers
Amplification	11/20(55)	5/20(25)	0/20(0)	0/6(0)	0/6(0)

TAE: tumor-adjacent epithelia, TDE: tumor-distant epithelia

Table 3. Int-2 amplification by dot blot hybridization for the tumor tissue, TAE of patients

	No. of cases(%)	
	Tumor	TAE
Amplification	5/14(35.7%)	2/14(14.3%)

*TAE: tumor-adjacent epithelia

음성군을 분류하기 위해 생존기간과 비교하여 다염색체 소견의 백분율을 3% 및 15%로 절단점(cutoff point)을 정하여 종양에서는 다염색체 소견이 15%, 절제연에서는 다염색체 소견이 3% 이상인 예를 양성군 그 이하인 예를 음성군으로 분류하였다. 이러한 분류에 의해 종양에서의 다염색체 양성군은 22례, 음성군은 20례였으며 절제연에서의 다염색체 양성군과 음성군이 각각 21례였다. 종양에서 다염색체 소견을 보인 예에서 재발 및 치료실패가 많았으며 (각각 $p=0.002$, $p=0.05$), 절제연에서 다염색체 소견을 보인 예에서 치료실패가 많았다 ($p=0.012$). 결론적으로 두경부 편평세포암종에서 절제연에서의 17번 염색체의 다염색체 소견은 두경부 편평세포암종의 예후를 예견하는 표지자로서의 가치가 있으며 이러한 결과는 클론확산의 개념으로 설명할 수 있을 것으로 생각된다.

3. 두경부 편평세포암종의 원발암과 주위 점막에서 int-2의 증폭²²⁾

20례의 두경부 편평세포암종 환자에서 수술시 종양, 병리조직학적으로 정상인 절제연 (인접점막) 및 협부 점막과 대조군 (6명의 흡연자 및 6명의 비

흡연자)의 협부 점막을 채취하여 포르말린에 고정하고 파라핀에 포매한 조직에서, int-2 cosmid probe를 사용하여 fluorescent in situ hybridization을 실시하고, 14례의 두경부 편평세포암종 환자에서 수술시 적출한 종양 및 병리조직학적으로 정상인 절제연을 동결한 조직에서 dot blot hybridization법을 실시하여 int-2의 증폭을 관찰하였다.

결과는 in situ hybridization법으로 검색한 결과 대조군 12명 (흡연자 대조군 6명, 비흡연 대조군 6명)에서는 int-2의 증폭을 보인 예는 없었으며 두경부 편평세포암종 환자 20례에서 종양에서는 11례 (55%)에서 증폭을 보였으며 인접점막에서는 5례 (25%)에서 증폭을 보였고 이들 인접점막에서 증폭을 보인 5례는 종양에서도 증폭을 보인 예들이다. 협부 점막에서 증폭을 보인 예는 없었다(Table 2).

Dot blot hybridization의 결과는 두경부 편평세포암종 환자 14례에서 종양에서는 5례(35.7%)에서 증폭을 보였으며 인접 점막에서는 2례(14.3%)에서 증폭을 보였고, 이들 인접 점막에서 증폭을 보인 2례는 종양에서도 증폭을 보인 예들이다 (Table 3).

결론적으로 int-2의 증폭은 암이 진행되면서 관

찰되는 소견으로 알려져 있어²³⁾ 두경부 편평세포암 중 환자의 종양 조직 외에도 종양에 인접한 병리조직학적으로 정상을 보인 점막에서도 int-2의 증폭을 관찰함으로써 이러한 인접 점막에서의 int-2의 증폭은 클론확산의 개념을 뒷받침하는 소견으로 생각된다. 따라서 인접 점막에서 int-2의 증폭을 보인 환자를 대상으로 전향적 연구를 실시하여 추적 관찰하면 int-2의 증폭과 치료 후 이차암의 발생 또는 국소 재발 등 임상결과간의 관계를 확립할 수 있을 것으로 생각된다.

4. 두경부에 발생한 다발암에서 p53, mdm-2, nm23과 TGF- α 의 발현양상²⁴⁾

두경부 다발암의 기원이 영역암발생인지 또는 클론확산인지의 개념 확립에 도움을 얻고자 두경부에 발생한 6례의 다발암 (전례가 편평세포암종으로 동시기암 3례, 이시기암 3례) 환자에서 발생한 12 부위의 종양에서 p53, mdm-2, nm23과 TGF- α 의 발현을 면역조직화학적 방법으로 검색하였다. 3례에서는 p53, mdm-2, nm23과 TGF- α 의 발현양상이 일차암과 이차암에서 같은 양상을 보였고, 나머지 3례에서는 단백질에 따라 같은 발현양상을 보인 경우와 보이지 않은 경우가 동시에 관찰되었다 (Table 4).

결론적으로 이러한 방법으로 두경부 다발암의 클

론성을 확인하는데는 방법의 단점이 있음에도 불구하고 3례에서 모든 단백질의 발현양상이 같은 것으로 보아 일부 두경부 다발암에서 클론확산의 가능성을 지지하는 소견으로 생각된다.

V. 결 론

다발암의 기원이 영역암발생인지 또는 클론확산인지를 확립하기에는 논란이 계속되고 있다. 그러나 적어도 클론 확산의 개념이 일부 두경부 다발암 및 재발에 깊은 연관이 있을 것으로 생각된다. 이러한 클론확산의 개념은 두경부 편평세포암종 환자의 치료 후 발생하는 이차암 외에도 충분한 절제 연에도 불구하고 발생하는 국소재발을 포함한 재발을 이해하는 개념으로 생각되며 향후 이러한 클론확산을 쉽게 밝힐 수 있는 표지자의 개발이 이루어지면 두경부암 환자의 치료에 큰 발전이 있을 것으로 생각된다.

References

1. Hordijk GJ, de Jong JM: *Synchronous and metachronous tumors in patients with head and neck cancer. J Laryngol Otol. 1983 ; 97 ; 619-621*

Table 4. Expression of p53, mdm2, nm23 and TGF α in multiple head and neck cancers (primary versus second primary cancers)

	Site		p53		mdm2		nm23		TGF α	
	P	S	P	S	P	S	P	S	P	S
1(M)	OC	LX	-	-	++++	++++	++++	++++	+++	+++
2(M)	LX	OC	-	-	++++	++++	+++	++++	++	+++
3(M)	H	ES	++	++++	-	++++	-	-	++++	++
4(S)	H	ES	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++
5(S)	H	ES	+++	-	++++	++++	++++	+++	+++	-
6(M)	LX	OR	-	++	-	++++	-	++++	++++	

P: primary cancer, S: secondary cancer, OC: oral cavity, LX: larynx, HY: hypopharynx, ES: esophagus, OR: oropharynx, M: metachronous, S: synchronous, -: negative staining, +: < 5% of positive staining cells, ++: 5~25% of positive staining cells, +++: 25~50% of positive staining cells, ++++: >50% of positive staining cells

2. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W : *Field cancerization in oral stratified squamous epithelium : clinical implication of multicentric origin. Cancer. 1953 ; 6 : 963-968*
3. Gluckman JO, Crissman JD, Donegan JO : *Multicentric squamous-cell carcinoma of the upper aerodigestive tract. Head Neck. 1980 ; 3 : 90-967*
4. Brennan JA, Mao L, Hruban RH, et al : *Molecular assessment of histopathological staging in squamous cell carcinoma of the head and neck. N Eng J Med. 1995 ; 332 : 429-435*
5. Bedi GC, Westra SR, Gasbrielson E, Koch W, Sidransky D : *Multiple head and neck tumors : evidence for a common clonal origin. Cancer Res. 1996 ; 56 : 2484-2487*
6. Worsham M, Wolman SR, Carey TE, et al : *Common clonal origin of synchronous primary head and neck squamous cell carcinomas : analysis by tumor karyotypes and fluorescence in situ hybridization. Human Pathol. 1995 ; 26 : 251-261*
7. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL(Eds) : *Robbins pathologic basis of disease. 5th ed. WB saunders. Philadelpia PA, pp241-303, 1994*
8. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Feinberg AP : *Use of restriction fragment length polymorphism to determine the clonal origin of human tumors. Science. 1985 ; 227 : 645-648*
9. Fialkow PJ : *Clonal origin of human tumors. Biochem Biophys Acta. 1976 ; 458 : 283-321*
10. Nowell PC : *The clonal evolution of tumor cell populations. Science. 1976 ; 94 : 23-28*
11. Chung KJ, Mukhopadhyay T, Kim JG, et al : *Genetic progression model for head and neck cancer : implication for field cancerization. Cancer Res. 1993 ; 53 : 1676-1683*
12. Nees M, Homman N, Discer H, et al : *Expression of mutated p53 occurs in tumor-distant epithelia of head and neck cancer patient : a possible molecular basis for the development of multiple tumors. Cancer Res. 1993 ; 53 : 4189-4196*
13. Sidransky D, Frost P, Escenbach AV, Oyasu R, Preisinger AC, Vogelstein B : *Clonal origin of bladder cancer. New Eng J Med. 1992 ; 326 : 737-740*
14. Parkin DM, Laara E, Muir CS : *Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1980. Int J Cancer. 1988 ; 41 : 184-197*
15. Wolf G, Lippman SM, Laramor G, et al : *Head and neck cancer. In Cancer medicine. 3rd Ed. Philadelphia, Lea & Febiger, pp887-894, 1990*
16. Hong WK, Bromer RH, Amato DA, et al : *Patterns of relapse in locally advanced head and neck cancer patients who achieved complete remission after combined modality therapy. Cancer. 1985 ; 56 : 1242-1245*
17. Vikram B : *Changing patterns of failure in advanced head and neck cancer. Arch Otolaryngol. 1984 ; 110 : 564-565*
18. Shin DM, Lee JS, Lippman SM, Lee JJ, Tu ZN, Choi G : *p53 expression : predicting recurrence and second primary tumors in head and neck squamous cell carcinoma. J Natl Cancer Inst. 1996 ; 88 : 519-529*
19. Choi G, Chung K : *Polysomies of chromosome 7 and 17 in head and neck squamous cell carcinomas. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1996 ; 122 : 1062-1067*
20. Hong WK, Lippman SM, Itri LM, et al : *Prevention of second primary tumors with isotretinoin in squamous-cell carcinoma of the head and neck. N Eng J Med. 1990 ;*

- 323 : 795-801
21. Chae SW, Choi G, Choi JO, SJ Hwang : *Polysomy of chromosome 17 : predicting treatment failure in head and neck squamous cell carcinomas. Unpublished data.*
 22. Jang IW, Oh SC, Choi G, Chae SW, Jung KY, JO Choi : *int-2 amplification in head and neck squamous cell carcinoma. Unpublished data.*
 23. Tsuda T, Tahara E, Kajiyama G, et al : *High incidence of coamplification of hst-1 and int-2 genes in human esophageal carcinomas. Cancer Res. 1989 ; 49 : 5505-5508*
 24. Choi G, Song JS, Chae SW, Jung KY, Choi JO : *Expression of p53, mdm-2, nm23 and TGF- α . Unpublished data.*