

한국인 두경부암 환자에서 제 3번 염색체 단완의 결손*

고려대학교 의과대학 내과학교실, 이비인후과학교실**

손미나 · 유영아 · 조증근 · 최 건** · 최종욱** · 김열홍 · 김준석

= Abstract =

Chromosome 3p Deletions in Korean Head and Neck Carcinomas

Mi Na Son, Young A Yoo, Zeung Keun Cho, Ph.D.,
Kun Choi, M.D.,** Jong Wook Choi, M.D.,**
Yeul Hong Kim, M.D., Jun Suk Kim M.D.

*Department of Internal Medicine, Otolaryngology,** Korea University College of Medicine,
Seoul, Korea*

Objectives : Deletion in the short arm of chromosome 3 is common in many human cancers, including sporadic and hereditary renal carcinomas, small cell lung carcinomas, non-small cell lung carcinomas, and carcinomas of the ovary, breast, and cervix. A high frequency of chromosomal aberrations in head and neck cancers involving chromosome 3p has also been reported. These findings suggest that multiple tumor suppressor genes may be present on the short arm of chromosome 3.

Materials and Methods : To investigate the possibility of chromosome 3p deletions in the Korean head and neck cancer patients, we applied a polymerase chain reaction(PCR)-based Restriction Fragment Length Polymorphism analysis to the DNA samples of matched normal mucosa and head and neck squamous cell carcinomas from 19 patients.

Results : In the 19 normal samples heterozygosity at the polymorphic loci varied : 6 at the D3F15S2 locus(on telomeric 3p21), 2 at the D3S32 locus(on centromeric 3p21), and 4 at the THRB locus(on centromeric 3p24). In 12 matched carcinoma specimens, LOH(loss of heterozygosity) was observed at D3F15S2 in 1 of 6(17%), D3S32 in 1 of 2(50%), and at THRB in 2 of 4 cases(50%).

Conclusion : The frequency of chromosome 3p deletion in the Korean head and neck carcinomas appear as other country did.

KEY WORD : Head and neck cancer · PCR-RFLP · Loss of heterozygosity.

서 론

사람의 고형암에서 일어나는 유전적인 변화 중 가장

*본 연구는 고려대학교 생명과학연구소 연구비 지원으로 이루어졌음.

대표적인 것이 암억제 유전자의 기능적 결여이다. 암억제 유전자의 기능적 결여는 종양의 발생과 진행에 있어 중요한 역할을 한다. 따라서 생물학적으로 중요한 암억제 유전자가 있는 염색체 부위를 찾아내는 작업을 통하여 이러한 암들의 진단과 치료를 용이하게 하는데 도움

을 받을 수 있다¹⁾.

최근 세포 유전학적·분자 유전학적인 연구를 통하여 여러 장기의 종양에서 염색체 이상이 보고되고 있다. 염색체의 구조적 이상으로는 전위(translocation), 삭제(deletion), 역위(inversion) 등이 있으며, 이 세 가지 중 특히 삭제가 주목받는 이유는 앞에서 기술한 암억제 유전자의 존재를 시사하는 소견 때문이다. 제3염색체 단안의 결손은 여러 가지 암에서 발견되는 유전학적 이상으로 폐암, 신장암, 소화포성 폐암, 난소암, 유방암, 자궁경부암 등에서 발견되었으며²⁻⁷⁾, 두경부암에서도 역시 제3염색체 단안의 염색체 이상이 높은 빈도로 나타남이 보고되고 있다^{8,9)}.

두경부 점막의 편평상피세포암은 조직학적·생물학적으로 다양한 성격을 지닌 종양으로 전체 암의 대략 4%를 차지한다. 환경적인 발암물질, 담배, 알코올 섭취, 유전적인 경향이 이러한 종양발달에 있어 영향을 미치는 위험요인으로 작용하게 된다¹⁰⁾.

두경부암의 분자학적인 발병기전은 비정상적인 성장인자의 발현, 암유전자의 활성화, 암 억제 유전자의 결여가 포함된다¹¹⁾. 이 중 두경부암에서 가장 많이 일어나는 유전적 이상은 p53 암 억제 유전자의 돌연변이로 33~100% 정도로 나타난다¹¹⁾. 염색체 이상도 이러한 종양 발달에 있어 중요한 역할을 하게 되는데, 이에 해당되는 염색체 부위로는 3p, 7p, 11q13, 17p 등이 해당되며 특히 p53 유전자가 존재하는 17p의 결손이 두경부암에서 높은 빈도로 나타난다. 3p의 결손은 두경부암의 암화과정에 있어 중요한 영향을 미치게 되고 결손 부위는 3p14에서 3p26사이가 해당된다¹²⁾. 염색체 3p의 이 부위들은 여러 가지 암의 발달과 관련된 암억제 유전자가 존재하는 부위일 가능성을 시사한다.

본 연구에서는 외국에서의 두경부암 발생 원인과 한국인에서의 발생 기전이 동일한지 여부를 밝히는데 도움이 되고자 외국의 보고를 바탕으로 한국인 두경부암 환자에서의 제3번 염색체 단안의 결손 빈도를 알아보았다. 또한 만성 흡연 등 발암물질에 노출된 두경부암 환자의 정상 점막은 이미 정상이 아닐 것이라는 가설하에 암조직, 정상조직뿐 아니라 혈액에서도 3p 결손을 비교하였다. 그리고 빈도면에서는 외국과 비교하여 차이가 있는지 알아보고, 3p LOH가 혼한 부위를 파악하고자 다음 연구를 시행하였다.

재료 및 연구방법

1. 표본채취

두경부암 환자의 수술시 암조직과 그에 일치하는 정상조직을 일부 채취하여 즉시 동결시킨 후 -70℃ 냉동고에 보관하였다. 두경부암 환자의 혈액을 채취하여 Ficoll(Histopaque 1077, Sigma)을 이용하여 백혈구만을 분리하여 -70℃ 냉동고에 보관하였다.

2. DNA 추출

DNA 추출은 일반적인 proteinase K digestion, phenol/chloroform 추출, 그리고 에탄올 침전법을 이용하였다. 우선 신선 냉동 조직을 digestion buffer(100 mM NaCl, 10mM Tris-Cl, 25mM EDTA, 0.5% sodium dodecyl sulfate pH 8)내에 넣고, 조직 분쇄기를 이용해 분쇄한 후, 0.1mg/ml proteinase K를 넣어 37℃에서 1시간이상 반응시켰다. 이후 phenol/chloroform/isoamyl alcohol(25:24:1)용액을 넣고 섞은 후 원심분리해서 상층액을 취하였다. 이 과정을 한 번 더 반복한 후, 상층액의 2배의 순수 에탄올과 1/10용량의 3M Sodium acetate(pH 5.2)를 넣고 -20℃에 1시간이상 보관한 후 13,000 rpm으로 10분간 원심 분리시켰다. 상층액을 따라내고 DNA pellet을 75% 에탄올로 세척한 후 10분정도 상온에서 건조시켰다. 50μl의 3차 증류수에 DNA를 녹인 후 실온에 하룻밤 방치하여 용해시킨 다음 -20℃ 냉동고에 보관하였다.

3. Polymerase chain reaction(PCR)

혈액, 암조직, 정상조직에서 얻은 DNA를 이용한 PCR은 100μl의 반응혼합용액을 만들며 1μg의 genomic DNA와 10X PCR buffer(100mM Tris/HCl, 15 mM MgCl₂, 500mM KCl, pH 8.3), 각각 10mM의 dNTP(dATP, dCTP, dGTP, dTTP), 100nM의 각 소식자(primer), 2.5unit의 Taq DNA polymerase(Boehringer Mannheim)를 포함하였다. PCR 반응에는 Perkin Elmer사의 Gene Amp PCR system 9600을 사용하였다.

3번 염색체 단원에 해당하는 polymorphic locus의 세 부위에 대해 PCR을 시행하였다. Telomeric 3p21 (D3F15S2)부위를 증폭시키기 위한 소식자는 5-TAG-ATCTGAGCCCGTGCCTGGGCCACGAA-3'와 5-

GAGTCCATCGCAGCAGTTGGCAACCATGGC-3이다.

Centromeric 3p21(D3S32) 부위를 증폭시키기 위한 소식자는 5'-TTGGCGGTGGGAGCCTGAAGTGT-3'와 5'-GGCTGGAAGTGGAGGAGTGCATG-3'이다. Centromeric 3p24(THRB) 부위를 증폭시키기 위한 소식자는 5'-AACGTTGGACCTCAAGCCCAT-3'와 5'-CAGGGTTCCTTCTATAAACATG-3'이다. PCR단계는 변성(denaturation)을 94°C에서 30초간, 소화과정(annealing)은 57°C에서 1분간, 그리고 연장(extension)은 72°C에서 1분 30초간으로 전체 30주기를 시행하였고, 마지막 주기 후 72°C에서 10분간 더 연장시킨 후 4°C에 보관하였다. PCR이 끝난 DNA용액 중 15μl를 취하여 6X gel loading buffer(0.25% bromophenol blue, 0.25% xylene cyanol FF, 30% glycerol) 2μl와 혼합 후 0.5X TBE(Tris-borate/EDTA electrophoresis buffer)와 함께 1.5% agarose gel에서 100V로 2시간 동안 전기영동을 시행하였다. 전기영동 결과는 agarose gel을 ethidium bromide(EtBr)로 염색한 후, 자외선 투시기 하에서 증폭된 DNA band 유무를 관찰하고 표식자로 사용한 PCR marker와의 크기 비교 후 폴라로이드 사진으로 촬영하였다.

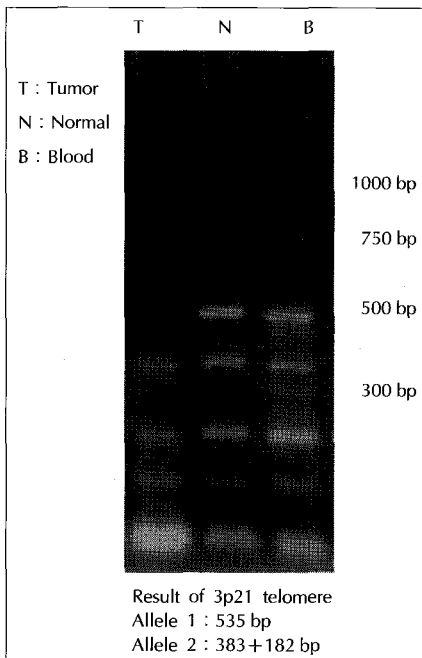


Fig. 1. Gel electrophoresis of PCR-RFLP analysis at telomeric 3p21(D3F15S2).

4. 제한효소 반응

PCR이 확인된 표본의 PCR 혼합용액 중 10μl를 취하여 각각의 해당하는 제한효소를 넣고, 37°C에서 4시간 동안 반응시켰다. 즉, telomeric 3p21에 대한 PCR용액에는 HindIII (10 units/μl, BM)와 buffer B(10mM Tris-HCl(pH 8.0), 5mM MgCl₂, 100mM NaCl, 1mM 2-Mercaptoethanol)를, centromeric 3p21에 대한 PCR용액에는 Afa I (12 units/μl, TaKaRa)과 buffer T(10mM Tris-HCl(pH 8.0), 7mM MgCl₂, 50mM NaCl, 7mM 2-mercaptoethanol, 0.01% BSA)를,

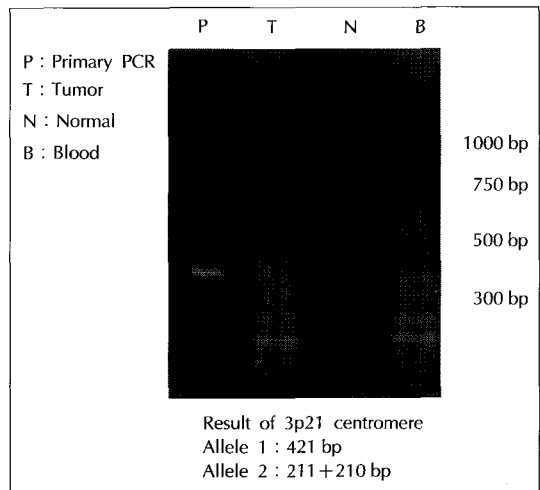


Fig. 2. Gel electrophoresis of PCR-RFLP analysis at centromeric 3p21(D3S32).

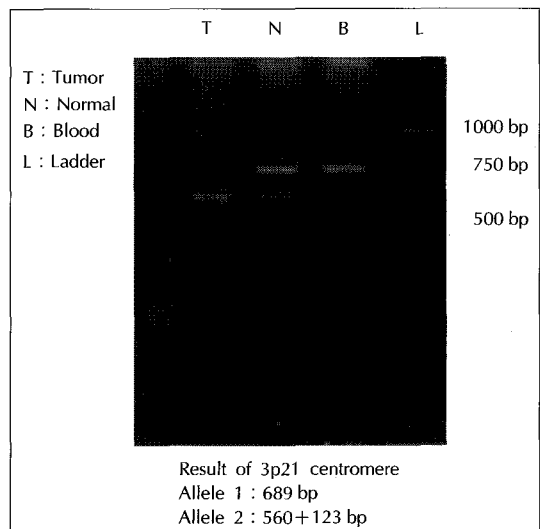


Fig. 3. Gel electrophoresis of PCR-RFLP analysis at centromeric 3p24(THRB).

centromeric 3p24에 대한 PCR용액에는 Msp I (10 units/μl, TaKaRa)과 buffer M(10mM Tris-HCl(pH 7.4), 10mM MgCl₂, 60mM NaCl, 10mM 2-mercaptoethanol, 0.01% BSA)를 반응에 사용되었다.

제한효소와 반응시킨 PCR용액에 6X gel loading buffer 2μl를 mix한 후, 0.5X TBE buffer와 함께 1.5% agarose gel에서 2시간 동안 전기영동하였다. 전기영동 결과는 agarose gel을 EtBr로 염색한 후, 자외선 투시기하에서 혈액, 정상조직, 암조직의 제한절편을 비교한 후 플라로이드 사진으로 촬영하였다.

결 과

1. PCR

Telomeric 3p21에 대한 PCR fragment size는 535 bp로 모든 표본에서 이에 해당하는 PCR 산물을 얻었으며, Centromeric 3p21에서 PCR fragment는 421 bp이고, Centromeric 3p24에서 PCR fragment는 689 bp로 이 부위에서는 5례에서 PCR산물을 얻지 못했다.

2. PCR-RFLP(Polymerase chain reaction-Restriction fragment length polymorphism)

각 PCR 산물은 제한효소를 처리할 때, 잘려지는 allele와 잘려지지 않는 allele의 두 가지 형태가 있을 수 있으며 제한효소 처리 후 이 두 가지 allele가 모두 나타나는 환자가 informative한 경우에 해당된다. Telomeric 3p21에 대한 PCR 산물을 제한효소로 처리하면 382+182bp로 잘려지고, Centromeric 3p21은 211+210bp로 잘려진다. 211bp와 210bp는 크기가 거의 일치하므로 gel상에서 잘 구분되지는 않는다. Centromeric 3p24는 560bp와 123bp로 잘려지는데, 123bp는

크기가 작아 gel상에 잘 나타나지 않지만 560bp가 나타나면 잘려지는 allele로 간주하였다. 자세한 염색체상 위치와 PCR fragment의 크기, primer의 서열을 Table 1에 나타내었다.

PCR-RFLP결과는 Table 2와 같다. 암조직에서 PCR 산물이 나오지 않은 경우는 LOH를 분석할 수 없어서 결과에서 제외하였다. 또한 암조직과 비교할 수 있는 혈액이나 정상조직에서 둘 다 PCR 산물이 나오지 않은 경우도 제외하였다. 결과적으로 D3F15S locus(telomeric 3p21)에서는 informative한 경우가 18례 중 6례(33%)이며 이 중 LOH는 1례(17%)이고, D3S32 locus(centromeric 3p21)에서는 informative한 경우가 18례 중에서 2례(11%), 이 중 LOH는 1례(50%)이다. THRB(centromeric 3p24)에서는 분석할 수 있는 경우가 9례이고, 그 중 informative한 경우가 4례(44%)이며, LOH는 2례(50%)에서 나타났다. 전체 informative한 경우 중 3p에서 LOH를 보인 환자는 33%(4/12)이었다.

고 찰

염색체의 결손을 찾는 검사법에는 과거 70년대부터 사용되어오던 세포 유전학적인 방법인 band mapping방법과 최근 분자 생물학적인 방법을 사용한 deletion mapping방법이 있다. Band mapping방법은 대체로 큰 부위의 염색체 이상만을 감지할 수 있고, deletion mapping을 이용하면 비교적 작은 부위의 이상까지도 감지할 수 있는 장점이 있다. Deletion mapping 방법에는 Southern blotting, microsatellite PCR방법, PCR-based RFLP assay가 있다. Southern blotting은 radioactive probe hybridization을 이용함

Table 1. Polymorphic primers, loci, and restriction enzymes used for polymerase chain reaction genotyping of 3p

Locus	Chromosomal localization	RFLP enzyme	Oligonucleotide primers	PCR fragment(bp)	
				1*	2†
D3F15S2	Telomeric 3p21	Hind III	5'-TAGATCTGAGCCCGTGCTGGGCCACGAA-3' 5'-GAGTCCATCGCAGCAGTTGGCAACCATGGC-3'	535	383+182
D3S32	Centromeric 3p21	Afa I	5'-TTGGCGGTGGGAGCCTGAAGTGT-3' 5'-GGCTGGAAGTGGAGGAGTGCATG-3'	421	211+210
THRB	Centromeric 3p24	Msp I	5'-AACGTTGGACCTCAAGCCCAT-3' 5'-CAGGGTTCCTTCTATAAACATG-3'	689	560+123

RFLP : restriction fragment length polymorphism ; PCR : polymerase chain reaction

*Allele 1(undigestible amplification products due to absence of the RFLP enzyme sites)

†Allele 2(digested PCR fragments)

Table 2. Loss of Heterozygosity at 3p in patients by PCR-RFLP analysis with squamous cell carcinoma of the head and neck

	sex /age	Telomeric 3p21			Centromeric 3p21			Centromeric 3p24		
		Blood	Normal	Tumor	Blood	Normal	Tumor	Blood	Normal	Tumor
1	M/56	H*	H*	H*	M	M	M	F	F	F
2	M/62	M	M	M	M	M	M	H*	H*	H*
3	M/53	F	M	M	F	M	M	F	F	F
4	M/69	M	M	M	M	M	M	F	F	F
5	M/42	M	M	F	M	M	F	F	F	F
6	M/64	F	M	M	F	M	M	F†	H†	M†
7	M/69	F	M	M	F	M	M	F	M	M
8	M/72	M	M	M	M	M	M	M	M	M
9	M/78	M	M	M	H†	H†	M†	F	M	M
10	M/63	M	M	M	M	M	M	F	F	M
11	M/61	F*	H*	H*	F	M	M	F	H	F
12	M/47	F	M	M	F	M	M	F	F	F
13	M/63	H†	F†	M†	M	M	M	F	H	F
14	M/67	H*	H*	H*	M	M	M	H*	H*	H*
15	M/53	M	M	M	M	M	M	M	M	M
16	M/60	F	M	M	F	M	M	F	F	F
17	M/61	M	M	M	M	M	M	H†	M†	M†
18	M/63	H*	F*	H*	M	M	M	M	M	M
19	M/56	H*	F*	H*	M*	M*	H*	F	M	F

F : No detection of PCR product

H : Heterozygosity

M : Monozygosity

*Informative case

†Loss of heterozygosity

으로써 PCR-based RFLP assay로 탐지할 수 없던 band를 찾아낼 수도 있으나, 시간이 많이 소요되고 상대적으로 많은 양의 조직이 필요하다. 반면 microsatellite polymorphism은 30~80%에서 heterozygosity를 나타냄으로써 제한효소 인식 부위에서 하나의 염기서열 치환에 의한 PCR-based RFLP assay보다 informative case를 많이 얻을 수 있고, genome에 증폭 가능한 부위가 고루 분포되어 있으므로 polymorphism이 detection되지 못한 부위에서도 highly informative marker로 활용이 가능하여 deletion mapping을 하는데 이상적인 방법이다¹³⁾. 그러나 방사성 동위원소를 사용해 PCR을 시행함으로써 오염의 위험이 있다. 이에 비하여 PCR-based RFLP assay는 짧은 시간에 가능하며, radioactive probe hybridization이 필요 없으며, 단지 작은 양의 DNA sample만 있으면 된다는 장점이 있다¹⁴⁾. 이 방법은 informative case가 적다는 단점은 있으나, El-Naggar 등의 보고에 따르면 Southern blotting과 PCR-based RFLP assay에서 나온 결과가 일치하며, 약 46%에서 informative case가 나타나 microsatellite polymorphism을 사용한 다

른 보고에 비하여 떨어지지 않는 성적을 보고하고 있다¹⁴⁾. 따라서 본 연구에서는 3p의 LOH를 조사하기 위하여 동위원소를 사용하지 않아도 되고, 작은 양의 DNA로 비교적 짧은 시간 안에 결과를 확인할 수 있는 PCR-based RFLP assay를 적용하였다.

3p에서의 세포 유전학적 이상과 높은 빈도의 allele loss는 여러 가지 조직학적으로 다양한 종양에서 증명되고 있다. 각 종양에서 암발생과 3p 결손과의 관계를 살펴보면, 우선 유방암에서 3p와 관련된 LOH부위는 FISH(fluorescence in situ hybridization)와 RFLP analysis를 통하여 연구한 결과 3p13-14, 3p24-26인 것으로 보고되었다¹⁵⁾. 폐암과 동반된 유전적 변화 중 가장 대표적인 것은 p53 유전자가 있는 17p염색체의 돌연변이와 3p 염색체의 결손을 들 수 있다¹⁶⁾. 특히 3p의 결손은 소세포성 폐암의 100%, 비소세포성 폐암의 50%에서 동반되어 이 부위에 암억제 유전자가 존재할 가능성이 매우 높다²⁾. 주로 폐암과 연관된 3p부위는 3p25.1, 3p23, 3p21.3, 3p14-14.2등으로 3p 결손이 있는 환자의 예후가 결손이 없는 환자에 비하여 나쁜 경향을 보이며 p53 돌연변이가 있는 환자에서 3p 결손이 흔하

게 나타난다¹⁶⁾. 특히 두경부 암에서 3p는 침윤성 암의 48%, 이형성증의 5%에서 LOH가 나타나는 것으로 보고되었다¹⁷⁾. 세포 유전학적 검사상 두경부암 세포주에서 염색체가 떨어져 나가는 3p부위는 3p11, 3p12, 3p14 등이고 분자 생물학적 방법을 사용하여 규명된 allele loss부위는 3p14의 telomeric방향으로부터 3p25까지 걸쳐 나타난다. LOH의 좀 더 자세한 빈도별 보고는 3p21.3-p22에서 53%로 가장 흔하다고 보고되었으며, 그 외에는 3p14.1-14.3부위가 44%, 3p25부위가 44%순이며¹⁸⁾, LOH가 있는 환자에서 예후가 불량한 것으로 보고되었다¹⁹⁾. 3p 결손뿐 아니라 여러 가지 암의 발생기전에 중요한 역할을 하는 p53 돌연변이 역시 두경부 암에서 33~100%로 높은 빈도를 나타내고¹¹⁾, p53 유전자가 존재하는 17번 염색체의 결손도 높은 빈도로 나타나고 있다¹³⁾.

이처럼 여러 가지 암에서 공통적으로 제 3번 염색체 단완의 결손이 확인됨에 따라 이 부위에 암 억제 유전자가 존재할 가능성이 높으며 각각의 암 종류에 따라 결손 부위가 약간씩 차이가 있어 장기별로 특수한 암 억제 유전자의 존재 가능성이 시사되고 있다.

본 연구의 결과 세 부위 모두에서 고루 결손이 관찰되었고, 특히 3p21부위에서 50%의 결손이 나타난 것은 외국의 보고와 비슷하며, 이 부위에서 암 억제 유전자의 존재를 시사한다. 최근 정상 흡연가의 정상 기관지에서 3p 결손이 확인되고 있어 germ line cell과 비교하여 정상 점막에도 3p 결손이 있는지 유무를 확인할 필요성이 있다. 따라서 본 연구에서는 암 조직과 그에 일치하는 정상 조직간의 LOH를 비교할 뿐만 아니라, 정상 조직과 혈액사이에서 LOH를 비교하였는데 51례 중 1례에서 혈액과 정상 사이에 다른 결과가 나왔다. 이것으로 암 환자의 정상 조직에도 이미 allele 결손이 일어날 수 있음을 알 수 있다.

그러나 본 연구에서 El Naggar 등의 보고와 같은 부위의 PCR-based RFLP assay를 사용하였으나¹⁴⁾ informative case가 27% 정도밖에 나타나지 않아 아마도 이 연구에서 사용한 PCR area가 한국인에서는 별로 이상적이지 못한 것으로 보인다. 또한 전체 대상의 수가 19례로 적으며, 특히 centromeric 3p24부위에서는 PCR 산물을 5례에서 얻지 못하여 더욱 informative case가 줄어들었다.

따라서 앞으로는 좀 더 많은 예에서의 연구가 진행되

어야 하며, microsatellite PCR방법, 세포 유전학적 방법과 병행된 연구를 통하여 informative case를 많이 얻을 수 있는 방법이 시도되어야 할 것이다.

결 론

한국인 두경부암 환자의 3p deletion빈도를 알아보기 위해 신선 냉동 조직 19례, 혈액 13례에서 DNA를 추출하여 PCR-based RFLP procedure를 이용하여 연구를 시행하였다. 그 결과 informative한 경우는 telomeric 3p21에서 6/18(33%), centromeric 3p21에서 2/18(11%), centromeric 3p24에서 4/9(44%)였으며, informative한 경우 중 LOH의 빈도는 각각 telomeric 3p21에서 1/6(17%), centromeric 3p21에서 1/2(50%), centromeric 3p24에서 2/4(50%)로서 3p 전체의 LOH빈도는 4/12(33%)이었다.

좀 더 많은 예에서의 검증이 필요하며, 더욱 informative한 검사방법인 microsatellite PCR을 사용한 방법으로의 확인이 필요하다. 한국인 두경부 암환자에서 제 3염색체 단완의 결손 빈도를 외국의 보고와 유사하여 이 부위에서의 암 억제 유전자의 존재를 시사한다고 볼 수 있다.

References

- 1) Nowell PC : *Cancer, chromosomes, and genes. Lab Invest.* 1992 ; 66 : 407-417
- 2) Hibi K, Takahashi T, Yamakawa K et al : *Three distinct regions involved in 3p deletion in human lung cancer. Oncogene.* 1992 ; 7 : 445-449
- 3) Bergerheim U, Nordenskjold M, Collins V : *Deletion mapping in human renal cell carcinoma. Cancer Res.* 1989 ; 49 : 1390-1396
- 4) Yokota J, Tsukuda Y, Nakajima T et al : *Loss of heterozygosity in the short arm of chromosome 3 in carcinoma of the uterine cervix. Cancer Res.* 1989 ; 49 : 3598-3601
- 5) Ehlen T, Dubeau L : *Loss of heterozygosity on the chromosomal segments 3p, 6q and 11p in human ovarian carcinoma. Oncogenes.* 1990 ; 5 : 219-223
- 6) Devilee P, van den Boeck M, Kuipers-Dukshoorn N, Kolluri R, Khan P, Cornelisse C : *At least four different chromosomal regions are involved in loss of*

- heterozygosity in human breast carcinoma. *Genomics*. 1989 ; 5 : 554-560
- 7) Lothe R, Fossa S, Stenwig A et al : *Loss of 3p or 11p is associated with testicular cancer tumors*. *Genomics*. 1989 ; 5 : 134-138
 - 8) Hauser-Urfer IH, Stauffer J : *Comparative chromosome analysis of nine squamous cell carcinoma lines from tumors of head and neck*. *Cytogenet Cell Genet*. 1985 ; 39 : 35-39
 - 9) Jin YS, Heim S, Mandahl N, Biorkund A, Wennerberg J, Mittleman F : *Unrelated chromosomal aberrations in carcinomas of the oral cavity*. *Genes Chromosome & Cancer*. 1990 ; 1 : 209-215
 - 10) Davis RK : *Prognostic variables in head and neck cancer : Tumor site, stage, nodal status, differentiation, and immune status*. *Otolaryngol Clin North Am*. 1985 ; 18 : 411-419
 - 11) Kenneth DS, Gary LS : *Genetic alterations in head and neck cancer*. *Otolaryngol Clin North Am*. 1992 ; 25 : 1065-1071
 - 12) David GB : *Molecular biology of head and neck cancer*. *Seminars in Oncol*. 1994 ; 21 : 320-329
 - 13) Michael HJ, Yamakawa K, Nakamura Y : *Isolation and characterization of 19 dinucleotide repeat polymorphism on chromosome 3p*. *Human Molecular Genetics*. 1992 ; 1 : 131-133
 - 14) El-Naggar AK, Lee M-S, Wang G, Luna MA, Goeppfert H, Batsakis JG : *Polymerase Chain Reaction-Based Restriction Fragment Length Polymorphism analysis of the short arm of chromosome 3 in primary head and neck squamous carcinoma*. *Cancer*. 1993 ; 72 : 881-886
 - 15) Chen L-C, Matsumura K, Deng G et al : *Deletion of two separate regions on chromosome 3p in breast cancer*. *Cancer Res*. 1994 ; 54 : 3021-3024
 - 16) Horio Y, Takahachi T, Kuroishi T et al : *Prognostic significance of p53 mutations and 3p deletions in primary resected non-small cell lung cancer*. *Cancer Res*. 1993 ; 53 : 1-4
 - 17) El-Naggar AK, Hurr K, Batsakis JG, Luna MA, Goeppfert H, Huff V : *Sequential loss of heterozygosity at microsatellite motifs in preinvasive and invasive head and neck squamous carcinoma*. *Cancer Res*. 1995 ; 55 : 2656-2659
 - 18) Wu CL, Sloan P, Andrew PR, Harris R, Thakker N : *Deletion mapping on the short arm of chromosome 3 in squamous cell carcinoma of the oral cavity*. *Cancer Res*. 1994 ; 54 : 6484-6488
 - 19) Li X, Lee NK, Ye YW et al : *Allelic loss at chromosome 3p, 8p, 13q, and 17q associated with poor prognosis in head and neck squamous carcinoma*. *J Natl Cancer Inst*. 1994 ; 86 : 1524-1529