

두경부 선양낭성암종에서 형광동소결합을 이용한 제 17번 염색체의 다염색체 소견

고려대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실
최 건 · 박재형 · 최충식 · 송재준 · 정광윤 · 최종욱

= Abstract =

Fluorescence *In Situ* Hybridization Analysis for Polysomy of Chromosome 17 in Head and Neck Adenoid Cystic Carcinomas

Geon Choi, M.D., Jae Hyung Park, M.D., Choong Sik Choi, M.D.,
Jae Joon Song, M.D., Kwang Yoon Jung, M.D., Jong Ouck Choi, M.D.

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

Background and Objectives : Adenoid cystic carcinoma of salivary glands is characterized by insidious growth over many years, local recurrences, and distant metastasis and classified to three distinct histologic subtypes: tubular, cribriform, and solid. The solid type is known to have the worst prognosis. However, histopathologic heterogeneity is observed in tumors from the same patient. We have attempted to elucidate the genotypic differences, characterized by polysomies of chromosome 17, in adenoid cystic carcinoma according to the phenotypic histopathologic heterogeneity.

Materials and Methods : Fluorescence in situ hybridization was performed on formalin-fixed paraffin blocks from seven patients with head and neck adenoid cystic carcinoma, using the centromeric α -satellite probe of chromosome 17 to detect nuclei exhibiting polysomy. The difference in polysomeric chromosome expression in cribriform, tubular, solid type and type I, II, III according to the Szanto classification was analyzed.

Results : Polysomy of chromosome 17 was found in 15.28% of the cribriform type, in 15.68% of the tubular type, and in 18.87% of the solid type. The proportion of polysomy was statistically higher in the solid type than in the cribriform type ($p < 0.05$), and the proportion of polysomy increased progressively from type 1 to type 3, but this trend was statistically insignificant ($p > 0.05$).

Conclusion : We suggest that there may be genetic variations in tumor from the same patient depending on the histopathologic heterogeneity in adenoid cystic carcinomas.

KEY WORDS : Adenoid cystic carcinoma · Polysomy · In situ hybridization.

서 론

선양낭성암종(adenoid cystic carcinoma)은 진단 전 수년간의 성장과 빈번한 재발 및 원격전이, 신경주위 침습을 특징으로 한다¹⁾²⁾. 암종은 조직학적 특성에 따라 사상형

교신저자 : 최 건, 152-703 서울 구로구 구로동 80
고려대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실
전화 : (02) 818-6749 · 전송 : (02) 868-0475
E-mail : geonchoi@korea.ac.kr

(cribriform type), 관상형(tubular type), 고형형(solid type)의 3개의 아형으로 구분되며 고형형이 가장 악성도가 높고 예후도 나쁜 것으로 알려져 있다³⁾. 그러나 이러한 아형의 분류는 병리학적 소견으로 어떠한 아형이 종양에서 많은 부분을 차지하는가에 따른 분류이며 실제로 동일한 환자에서 적출한 종양에서도 세가지 형태가 혼재하는 표현형의 이질성(phenotypic heterogeneity)이 관찰된다. 같은 환자에서 적출된 조직에서의 표현형의 이질성은 이러한 아형의 분류의 임상적 의의에 대한 의문을 갖게 한다. 첫째, 주

로 사상형과 관상형의 조직으로 구성된 암종에서 일부 고행형이 섞여 있으면 고행형의 세포들은 악성도가 높아 사상형이나 관상형의 세포들 보다 빠른 성장이나 전이 등을 일으킬 수 있으며 따라서 고행형이 일부라도 포함된 암종은 고행형이 포함되지 않은 암종 보다 악성으로 분류되어야 하지 않을까 하는 의문이며, 둘째 고행형이 포함된 암종이 병리조직학적으로 표현형의 이질성은 있으나 유전자형(genotype)에서는 이질성이 보이지 않아 고행형이 포함되어 있더라도 주로 사상형과 관상형이 주를 이루는 암종에서 좋은 예후를 보일 수 있을 것이라는 가정이다. 따라서 선양낭성암종의 조직에서 유전자형의 분석은 이상의 의문의 일부를 해결할 수 있을 것으로 기대된다.

유전자형을 보는 방법 중 하나인 세포유전학적 분석(cytogenetic analysis)에는 핵형분석(karyotyping)과 동소결합(in situ hybridization)이 있으나 핵형분석이 세포분열 중기(metaphase)에서만 분석이 가능하였던 것과 달리 동소결합은 다양한 종류의 특수 염색체에 특수한 표적이 되는 반복성 DNA배열 순서나 전체 혹은 일부 염색체 절편의 배열순서를 인지하는 DNA 소식자(probe)를 이용하여 세포분열 중기뿐만 아니라 간기(interphase)에서도 염색체의 수적, 구조적 이상을 확인할 수 있고 파라핀 포매 조직을 이용할 수 있다는 장점이 있다⁴⁾. 최근 신호검색을 용이하게 하기 위해 DNA 소식자에 직접 형광을 부착시켜 사용한 형광동소결합(fluorescence in situ hybridization)이 개발되어 고행종양(solid tumor)의 유전자적 연구에 시행되고 있다^{5,6)}.

본 연구의 목적은 병리조직학적으로 표현형의 이질성을 보이는 선양낭성암종에서 제 17번 염색체의 중심질 부위의 DNA 배열순서를 인지하는 형광이 부착된 α -satellite DNA 소식자를 사용하여 형광동소결합을 시행하여 제 17번 다염색체(polysomy) 양상을 확인하여 유전자형의 이질성이 있는가를 분석하는데 있다.

대상 및 방법

1. 대 상

1994년 1월부터 1998년 1월까지 두경부의 선양낭성암종으로 진단받고 수술적 치료를 실시한 26례의 환자의 조직 중 종양의 중심으로 판단된 절편에서 형광동소결합을 실시하여 결과를 판정하기에 적절하였던 7개의 조직을 대상으로 하였다. 대상환자의 평균 연령은 53.3세였고 성비는 남자가 2례, 여자가 5례였으며 종양의 부위별 분포는 주타액선이 3례, 소타액선이 4례였고 진단 당시 원발병소 및 경부전이 병기를 확인하였다⁷⁾. 대조군은 3례의 다형성 선종(pl-eomorphic adenoma)에서 적출한 종양 주위의 정상 타액

선으로 하였다(Table 1).

2. 병리조직학적 구분

광학현미경하에서 병리조직 슬라이드를 헤마톡실린-에 오신(hematoxylin-eosin) 염색으로 검사하여 선양낭성암종의 조직학적 아형의 사상형, 관상형, 고행형에 따른 종양에서의 비율을 조사하였다. 또한 Szanto등⁸⁾의 선양낭성암종의 조직학적 아형에 대한 분류법에 따른 분류는 병리의사가 재구분하였으며 사상형과 관상형으로 구성된 Szanto의 분류에서 제 1형으로 분류된 3례와, 고행형이 30%내를 차지하는 제 2형이 2례, 고행형이 30% 이상 차지하는 제 3형이 2례이었다(Table 1).

3. 형광동소결합

포르말린에 고정하고 파라핀에 포매된 조직을 5 μ m의 두께로 절편을 만들고 ProbeOn Plus slide(Fisher Scientific, USA)에 흡착시켜 실온에 보관하였다. 슬라이드를 65 $^{\circ}$ C 오븐에 하룻밤을 두어 조직을 슬라이드에 밀착시키고 다음날 조직절편이 붙은 슬라이드를 실렌(xylen)에 10분씩 3회 처리하여 파라핀을 제거한 후 100% 에탄올에 10분씩 2회 실온처리하여 탈수시키고 슬라이드를 공기중에 건조하였다. 세포질의 제거는 실온에서 0.2N HCl에 20분간 처리하였고 증류수로 3분간 3회 씻어 반응을 중지시켰으며 sodium thiocyanate(NaSCN)가 포함된 전처리 용액(Vysis, USA)으로 80 $^{\circ}$ C 진탕수조(shaking water bath)에서 30분간 세척하였다. 핵단백의 제거는 건조된 슬라이드를 pH 2.0의 단백질 분해효소 용액(Vysis, USA)으로 37 $^{\circ}$ C 진탕수조에서 10분간 세척하였으며 2x SSC(standard sodium citrate solution, pH 7.0, 이후 SSC로 약함)로 5분씩 2회 세척한 후 45~50 $^{\circ}$ C의 슬라이드 건조기(slide warmer)에 건조시켜 10% 포르말린 완충액에 10분간 고정하였다. 이후 2x SSC에 5분간 2회 세척후 슬라이드 건조기에 건조하여 실온에 보관하였다.

슬라이드를 73 $^{\circ}$ C로 미리 데워진 변성 용액(70% formamide in 2x SSC, pH 7.0~8.0)에 5분간 진탕수조에서 처리한 후 계열 에탄올로 실온에서 탈수시킨 후 45~50 $^{\circ}$ C 슬라이드 건조기에 1분간 건조하였다.

제 17번 염색체의 중심질 부위(pericentromeric region)의 반복성 α -satellite DNA 소식자에 녹색 계열의 형광(fluorophore)이 직접 부착된 DNA FISH 소식자(Vysis, USA)를 사용하였다. 1 μ l의 DNA 소식자에 2 μ l의 증류수와 7 μ l의 probe hybridization 완충액(dextran sulfate, 50% formamide in 2x SSC, pH 7.0)을 섞어 하이브리드 결합 혼합물을 만들고 호일에 싸서 73 $^{\circ}$ C에서 5분간 진탕수조하여 DNA 소식자를 변성시켰다.

건조된 슬라이드에 하이브리드 결합 혼합물 10 μ l를 조직

Table 1. Characteristics of 7 patients and Szanto's grade according to the proportion of three histologic subtypes in adenoid cystic carcinomas

No	S/A	Site	Stage	Surgery	Histologic proportion(%)			
					C	T	S	Grade*
1	F/43	hard palate	T2N0M0	laser excision	10	90	0	I
2	M/42	SG	T1N0M0	SG resection, SONND	90	10	0	I
3	F/75	parotid	T2N0M0	parotidectomy, PPD	10	90	0	I
4	M/47	tongue base	T2N0M0	resection via MG	35	60	5	II
5	F/43	parotid	T3N0M0	parotidectomy	70	20	10	II
6	F/48	tongue base	T4N1M0	near total glossectomy, SONND	40	30	30	III
7	F/75	nasal floor	T1N0M0	resection	65	0	35	III

S/A : Sex/Age, C : cribriform, T : tubular, S : solid, * : Szantos grade(1984), SG : submandibular gland, SONND : supraomohyoid neck dissection, PPD : parapharyngeal dissection, MG : mandibuloglossotomy

에 점적하고 덮개유리를 덮은 후 고무풀로 주변을 봉하였다. 슬라이드를 빛이 들어가지 않는 하이브리드 결합상자에 넣어 42℃ 배양기에서 16시간 동안 하이브리드 결합을 시행한 후 고무풀과 덮개유리를 제거하였다. 0.4x SSC와 0.3% NP-40(Nonidet-P 40 : Vysis, USA)을 혼합한 용액에 73℃ 진탕수조에서 2분간 세척하였고 2x SSC와 0.1% NP-40의 혼합물에 실온에서 1분간 세척하였다. 암실에서 건조 후 대조 염색은 propidium iodide(Vysis, USA)를 사용하여 슬라이드 조직에 10 μ l를 점적한 후 덮개유리를 덮고 형광현미경(Carl Zeiss, Germany)으로 형광동소결합 신호를 관찰하였다.

4. 결과 판정

형광동소결합 신호의 검색은 경우 관찰되는 조직내에서 각각의 조직학적 아형에서 각각 400개 이상의 핵을 세었다. 신호의 수를 세는 기준은 (1) 핵이 세포질의 물질에 덮혀 있지 않고, (2) 핵이 서로 겹쳐 있지 않으며, (3) 신호들의 강도가 비교적 균등하며 (4) 작고 강도가 약하여 비특이적 이하고 판단되는 신호는 제외하였고, (5) 신호들이 서로 떨어져 있는 경우를 세었으며, (6) 신호들이 붙어 있을 때, 즉 쌍으로 존재하거나 갈라졌을 경우는 하나로 세었다⁹⁾. 조직에 따른 신호의 강도의 확인은 조직내에 포함된 림프구의 결합신호를 내부대조(internal signal)로 이용하였다. 3개 이상의 신호가 있는 핵을 제 17번 염색체의 다염색체 소견으로 판정하였다. 조직학적 아형과 Szanto 분류에 따른 다염색체 소견의 비율에 대한 통계학적 분석은 Mann-Whitney test를 사용하였고 통계학적인 유의성은 p값이 0.05이하인 경우로 하였다.

결 과

1. 병리조직학적 이질성에 따른 다염색체 소견

Szanto 등의 분류에 따른 고행형이 포함되지 않은 제 1

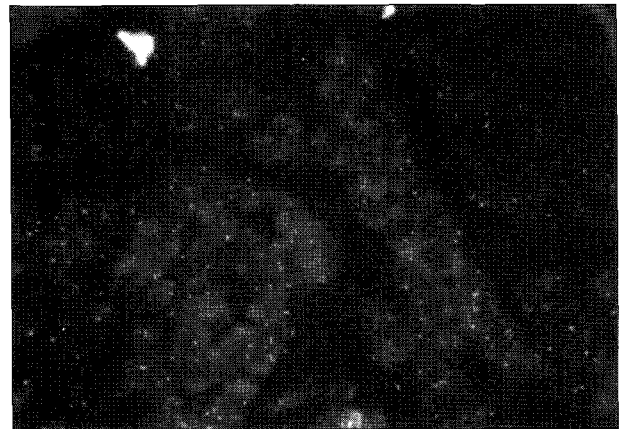


Fig. 1. Chromosome 17 signals in tubular and cribriform types of adenoid cystic carcinoma. Three or four signals are seen in the nuclei(X1000).

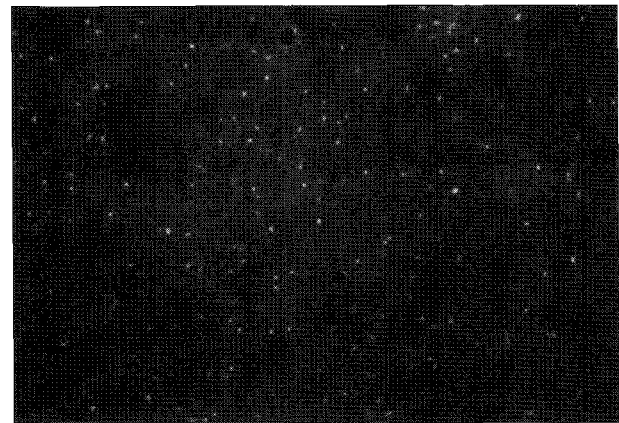


Fig. 2. Chromosome 17 signals in solid type of adenoid cystic carcinoma. Most nuclei show more three or four signals than Fig. 1(X1000).

형 3례와 고행형이 포함된 제 2형 및 제 3형 4례 모두에서 병리조직학적 아형에 따른 다염색체 소견의 이질성이 관찰되었으며 전체 환자 7명의 조직에서 사상형, 관상형 및 고행형 별로 분류한 다염색체의 평균값은 사상형에서 15.28%, 관상형에서 15.68%, 고행형에서 18.87%로 고행형에서 사상형보다 다염색체 소견이 유의하게 높게 나타났으나(p

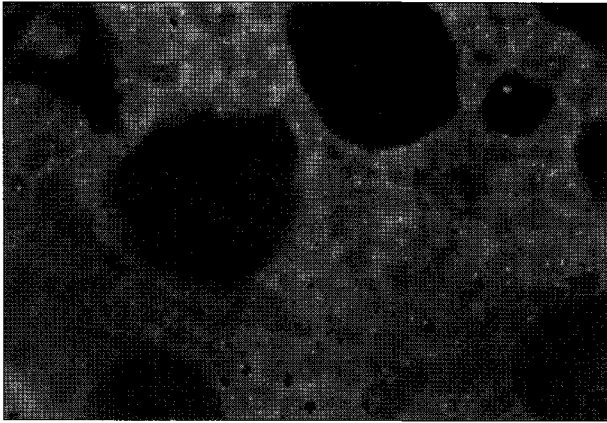


Fig. 3. Chromosome 17 signals in histologic normal control. Most nuclei show one or two signals($\times 1000$).

Table 2. The proportion of polysomies depending on histologic subtypes in adenoid cystic carcinomas

No	Cribriform	Tubular	Solid	Mean
1	14.40	17.03	/	16.62
2	15.62	14.71	/	15.53
3	12.44	16.52	/	15.99
4	13.33	12.67	16.95	13.16
5	16.45	19.32	18.89	17.27
6	18.18	13.81	22.53	18.17
7	16.51	/	17.10	16.72

Mean \pm S.D. 15.28 \pm 2.00 15.68 \pm 2.42 18.87 \pm 2.60

S.D. : standard deviation

($p < 0.05$)

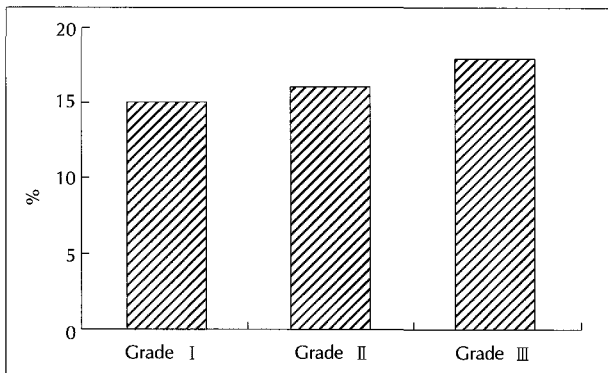


Fig. 4. The proportion of polysomies depending on Szanto's grade in adenoid cystic carcinomas($p > 0.05$).

< 0.05), 환자 5에서와 같이 고형형에서 보다 관상형에서 다염색체 소견이 높게 관찰되는 등 각 환자별로 병리조직학적 아형에 따른 다염색체 소견의 차이는 관찰되지 않았다(Fig. 1, 2). 정상 대조군에서는 다염색체 소견은 관찰되지 않았다(Fig. 3, Table 2).

2. Szanto 분류에 의한 다염색체 소견의 비율

Szanto 분류에 의한 FISH 신호 3개 이상의 다염색체 소견의 비율은 제 I 형 15.12%, 제 II 형 16.27%, 제 III 형 17.63%로 고형형이 많은 제 III 형으로 갈수록 증가되는 경

향을 보였으나 유의한 차이는 없었다(Fig. 4).

고 찰

선양낭성암종의 예후에 영향을 미치는 인자로 암의 위치 및 크기, 신경주위 침습과 경부전이 여부, 조직학적 아형 등이 중요하며²¹⁰⁾¹¹⁾, 그 중에서도 조직학적 아형이 예후에 가장 큰 영향을 주어³¹¹⁻¹³⁾ 세 가지 조직학적 아형 중 관상형과 사상형은 비교적 오랜 임상적 경과와 함께 드문 전이와 높은 생존률을 보이나 고형형에서는 빈번한 전이 및 낮은 생존률을 보이는 급격한 경과를 보이는 것으로 알려져 있다²³⁾⁸⁾. 그러나 한 환자에서 적출된 암종에서도 많은 경우 세 가지 형태가 혼재하여 나타나는 병리조직학적 이질성이 관찰되고 있어 Szanto 등⁸⁾은 선양낭성암종을 조직학적 아형의 비율에 따라 관상형과 사상형만 존재하고 고형형이 관찰되지 않는 제 1형, 순수한 사상형 또는 혼합되어 존재하나 고형형이 30% 미만인 제 2형, 고형형이 지배적인 제 3형으로 분류하여 제 1형에서 제 3형으로 갈수록 예후가 나쁘다고 하였다.

악성 표현형은 세포 유전형 변화의 최종 산물로 암세포에서의 유전형의 변화가 표현형에 어떤 영향을 미치는지 아는 것이 종양형성을 이해하는데 중요하며 세포유전학적 분석을 통해 염색체의 전위(translocation), 결손(deletion), 역위(inversion), 삽입(insertion), 증폭(amplification) 등의 구조적 이상과 결손(loss), 중복(duplication)의 수적 이상을 확인할 수 있다. 고형성 종양의 세포유전학적 분석으로 핵형 분석법에 비해 동소결합은 염색체에 높은 특이성이 있는 α -satellite DNA 소식자를 사용하여 표적이 되는 염색체 중심질 주변지역에 소식자가 동소결합을 하여 염색체 이상을 증기 핵뿐만 아니라 간기 핵에서도 확인이 가능하게 되었다⁴⁾⁹⁾¹⁴⁾. α -satellite DNA는 순차적으로 반복되는 DNA군으로 영장류의 염색체 중심질 부위에 존재하며 제 17번 염색체 DNA의 1.5~3.0%를 차지하고 DNA 소식자로 동소결합을 시행하여 나타나는 신호의 수는 염색체 중심질의 복제수를 나타낸다⁹⁾¹⁴⁾.

타액선 종양에서의 세포유전학적 분석은 종양의 유사분열 지수가 낮고 종양 배양의 어려움으로 인해 제한적으로 연구되어 왔다¹⁵⁾¹⁶⁾. Franzen 등¹¹⁾은 20례의 선양낭성암종 파라핀 포매조직을 이용하여 세포측광기(cytophotometer)를 통해 조직학적 아형에 따른 DNA유형을 알아보았으며 20례중 14례에서 DNA 이배체(diploid), 6례는 DNA 이수배체(aneuploid)였고 DNA 이수배체의 경우 모두 고형형이 지배적으로 나타나 선양낭성암종에서 DNA 측정을 통해 병리조직학적 예측 및 예후 판정에 도움을 준다고 하였다. Li 등⁶⁾은 형광동소결합방법을 사용하여 8례의

다형성 선종과 11례의 선양낭성암종, 3례의 정상 림프절에서 제 17번 염색체의 다염색체 소건을 조사하여 정상에서 1.2%, 다형성 선종에서 10.3%, 선양낭성암종에서는 23.1%로 선양낭성암종에서 염색체의 수적 이상이 유의하게 많이 발견됨을 확인하였으며 다형성 선종의 다염색체 소견은 악성변화로의 위험성을 증가시킨다고 보고하였다. 그러나, 선양낭성암종의 조직학적 아형에 따른 다염색체 양상을 비교한 연구는 없었다. 또한, 제 17번, 18번 염색체의 상실이 대장의 선암종에서 선종보다 흔한 것처럼¹⁷⁾¹⁸⁾ 다형성 선종과 선양낭성암종에서 제 17번 염색체의 상실로 인한 단일 염색체가 정상 림프절에 비해 유의하게 증가되어 제 17번 염색체 상실이 다형성 선종에서 암종으로 변환되기 전에 발생하는 것으로 생각하였다. 그러나 조직에서 형광동소결합을 사용하여 17번 염색체의 수를 확인할 때 조직절편을 만드는 과정에서 염색체의 중심절이 절편에서 벗어날 수 있기 때문에 이러한 방법으로 염색체 상실을 연구하는 것은 비특이적이라고 보고되어⁴⁾ 본 연구에서는 염색체 상실을 관찰하지는 않았다. 또한 본 연구에서 17번 염색체의 중심절 소식자를 사용한 이유는 전반적인 특별한 유전자의 변화를 보고자 한 것이 아니고 일반적인 유전자형의 변화를 보고자 한 것으로 17번 염색체의 중심절 소식자를 사용한 이유는 신호가 뚜렷하고 보합이 용이하기 때문이었다.

본 연구에서는 선양낭성암종에서도 흔하게 관찰되는 다염색체 소견을 조직학적 아형에 따라 비교하였다.¹⁴⁾¹⁹⁾ 제 17번 다염색체 소견이 고형형에서 사상형보다 유의하게 높게 나타나 고형형에서 유전형의 변화가 더 많고 종양 증식력도 높을 것으로 생각되었다. Szanto 분류에 의한 다염색체 소견은 제 III 형으로 갈수록 증가하는 양상을 보였지만 유의한 차이는 없었으며 이것은 대상환자의 수가 적고 제 III 형에 속하는 2례에서 고형형의 비율이 30~35% 정도로 비교적 낮은 것이 원인으로 생각되었다.

서론에서 제시한 의문, 즉 주로 사상형과 관상형의 조직으로 구성된 암종에서 일부 고형형이 섞여 있으면 고형형의 세포들은 악성도가 높아 사상형이나 관상형의 세포들 보다 빠른 성장이나 전이 등을 일으킬 수 있는가와 고형형이 포함된 암종이 병리조직학적으로 표현형의 이질성은 있으나 유전자형에서는 이질성이 보이지 않는가에 관한 것은 고형형이 포함된 종양에서 이질성이 있었으나, 증거가 적어 예후와의 연관에 관하여는 향후 더욱 연구되어야 할 부분으로 생각된다.

결 론

선양낭성암종에서 제 17번 다염색체 소견이 조직학적 아형중 고형형에서 사상형보다 유의하게 높게 나타나 동일한

환자의 종양에서도 병리조직학적 이질성에 따라 유전자 변이의 차이가 있을 것으로 생각되며 향후 더 많은 대상 환자와 추적 관찰을 통해 임상적 예후와의 관련성에 대한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

References

- 1) Kim KH, Sung MH, Chung PS, Rhee CS, Park CI, Kim WH : Adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1994 ; 120 : 721-726
- 2) Matsuba HM, Spector GJ, Thawley SE, Simpson JR, Mauney M, Pikul FJ : Adenoid cystic salivary gland carcinoma : a histopathologic review of treatment failure patterns. *Cancer.* 1986 ; 67 : 519-524
- 3) Perzin KH, Gullane P, Clairmont AC : Adenoid cystic carcinomas arising in salivary glands : a correlation of histologic features and clinical course. *Cancer.* 1978 ; 42 : 265-282
- 4) Choi G, Chung K : Polysomies of chromosome 7 and 17 in head and neck squamous cell carcinomas. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1986 ; 122 : 1062-1067
- 5) Li X, Tsuji T, Wen S, Mimura Y, Sasaki K, Shinozaki F : Detection of numeric abnormalities of chromosome 17 and p53 deletions by fluorescence in situ hybridization in pleomorphic adenomas and carcinomas in pleomorphic adenomas. *Correlation with p53 expression.* *Cancer.* 1997 ; 79 : 2314-2319
- 6) Li X, Tsuji T, Wen S et al : A fluorescence in situ hybridization(FISH) analysis with centromeric specific DNA probes of chromosome 3 and 17 in pleomorphic adenomas and adenoid cystic carcinomas. *J Oral Pathol Med.* 1995 ; 24 : 398-401
- 7) Flemming ID, Cooper JS, Henson DE et al : *AJCC cancer staging manual.* 5th ed. Philadelphia New York : Lippincott-Raven Publishers, 1997 : 53-58
- 8) Szanto PA, Luna MA, Tortoledo E, White RA : Histologic grading of adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Cancer.* 1984 ; 54 : 1062-1069
- 9) Hopman AH, Poddighe PJ, Smeets AW et al : Detection of numerical chromosome aberrations in bladder cancer by in situ hybridization. *Am J Pathol.* 1989 ; 135 : 1105-1117
- 10) Conley J, Dingman DL : Adenoid cystic carcinoma in the head and neck(cylindroma). *Arch Otolaryngol.* 1974 ; 100 : 81-90
- 11) Franzen G, Klausen OG, Glenko RT, Carstensen J, Norden-skjold B : Adenoid cystic carcinoma : DNA as a prognostic indicator. *Laryngoscope.* 1991 ; 101 : 669-673
- 12) Batsakis JG, Luna MA, El-Nagger AK : Histopathologic grading of salivary gland neoplasm : III. adenoid cystic carcinomas. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1990 ; 99 : 1007-1009
- 13) Spiro RH, Huvos AG, Strong EW : Adenoid cystic carcinoma of salivary origin : a clinicopathologic study of 242 cases. *Am J Surg.* 1974 ; 128 : 512-520
- 14) Voravud N, Shin DM, Ro JY, Lee JS, Hong WK, Hittell-

- man WN : *Increased polysomies of chromosome 7 and 17 during head and neck multistage tumorigenesis. Cancer Res.* 1993 ; 53 : 2874-2883
- 15) Sandberg AA, Turc-Carel C, Gemmill R : *Chromosomes in solid tumors and beyond. Cancer Res.* 1988 ; 48 : 1049-1059
- 16) Sandberg AA, Turc-Carel C : *The cytogenetics of solid tumors : relation to diagnosis, classification and pathology. Cancer.* 1987 ; 59 : 387-395
- 17) Fearon ER, Vogelstein B : *A genetic model for colorectal tumorigenesis. Cell.* 1990 ; 61 : 759-767
- 18) Sasaki K, Sato T, Kurose A, Uesugi N, Ikeda E : *Monosomy of chromosome 18 detected by fluorescence in situ hybridization in colorectal tumors. Cancer.* 1995 ; 76 : 1132-1138
- 19) El-Nagger AK, Dinh M, Tucker SL, Gillenwater A, Luna MA, Batsakis JG : *Chromosomal and DNA ploidy characterization of salivary gland neoplasms by combined FISH and flow cytometry. Hum Pathol.* 1997 ; 28 : 881-886