

한국인 후두 편평 상피 세포암의 유전체 이상분석 : Array 비교 유전체 보합법

홍익병원 이비인후과,¹ 이화여자대학교 의학전문대학원 이비인후과학교실,² 해부학교실,³
충북대학교 의과대학 이비인후과학교실⁴

조윤희¹ · 박수연³ · 이동욱⁵ · 김한수² · 이자현² · 박혜상² · 정성민²

= Abstract =

Genomic Alterations in Korean Laryngeal Squamous Cell Carcinoma : Array-Comparative Genomic Hybridization

Yoon Hee Cho, MD¹, Soo-Yeun Park, MD³, Dong Wook Lee, MD⁵, Han Su Kim, MD²,
Ja Hyun Lee, MD², Hae Sang Park, MD², Sung Min Chung, MD²

Department of Otolaryngology,¹ Hongik Hospital, Seoul, Korea

Department of Otolaryngology² and Anatomy,³ School of Medicine, Ewha Womans University, Seoul, Korea

Department of Otolaryngology,⁴ College of Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, Korea

Head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) still has poor outcome, and laryngeal cancer is the most frequent subtype of HNSCC. Therefore, there is a need to develop novel treatments to improve the outcome of patients with HNSCC. It is critical to gain further understanding on the molecular and chromosomal alteration of HNSCC to identify novel therapeutic targets but genetic etiology of squamous cell carcinoma of the larynx is so complex that target genes have not yet been clearly identified. Array based CGH(array-CGH) allows investigation of general changes in target oncogenes and tumor suppressor genes, which should, in turn, lead to a better understanding of the cancer process. In this study, We used genomic wide array-CGH in tissue specimens to map genomic alterations found in laryngeal squamous cell carcinomas. As results, gains of *MAP2*, *EPHA3*, *EVII*, *LOC389174*, *NAALADL2*, *USP47*, *CTDP1*, *MASP1*, *AHRR*, and *KCNQ5*, with losses of *SRRM1L*, *ANKRD19*, *FLJ39303*, *ZNF141*, *DSCAM*, *GPR27*, *PROK2*, *ARPP-21*, and *B3GAT1* were observed frequently in laryngeal squamous cell carcinoma tissue specimens. These data about the patterns of genomic alterations could be a basic step for understanding more detailed genetic events in the carcinogenesis and also provide information for diagnosis and treatment in laryngeal squamous cell carcinoma. The high resolution of array-CGH combined with human genome database would give a chance to find out possible target genes which were gained or lost clones.

KEY WORDS : Squamous cell carcinoma · Array-CGH · Genomic alteration.

서 론

종양의 발생과 진행은 세포의 유전자 변형과 밀접한 관

계가 있다. 종양은 암유전자, 암억제유전자, 부정합 보수 (DNA mismatch repair) 유전자, 세포의 노화나 세포자멸사(apoptosis) 등과 관련된 유전자의 변이를 동반하는 다 단계 과정에 의하여 발생되고 진행되는 것으로 알려져 있으며, 이러한 유전자 변이는 염색체의 자리옮김, 결손, 증폭 등의 현상으로 나타날 수 있다.¹⁾ 이러한 유전자 변형을 찾기 위하여 다양한 세포유전학적 혹은 분자유전학적 기법

교신저자 : 정성민, 158-710 서울 양천구 목6동911-1
이화여자대학교 의학전문대학원 이비인후과학교실
전화 : (02) 2650-6163 · 전송 : (02) 2648-5604
E-mail : sungmin@ewha.ac.kr

들이 이용되어 왔으며, 이에 의해 발견된 특이적인 염색체 변이는 암의 진단이나 예후를 평가하는데 적용될 수 있다.²⁾

비교 유전체 보합법(comparative genomic hybridization, CGH)은 FISH 방법의 일종이며, 기존의 세포유전학적 분석 방법에 비해 모든 염색체 상에서의 정상 염색체에 대한 상대적인 염색체의 수적인 변화를 한 번에 알 수 있게 해준다.^{3,4)} 즉, 종양조직의 DNA와 정상 DNA를 각기 다른 형광물질로 표지한 후, 정상 중기 염색체에 경쟁적으로 결합시켜 정상 DNA의 결합 신호에 대한 종양 DNA의 결합 신호의 비율에 따라 종양에서의 증폭 혹은 결실된 부분을 쉽게 검출해 낼 수 있는 방법이다. 그러므로 CGH 기법은 암의 진행 및 클론의 변화 분석, 암의 조직학적 아형(subtype) 분류 및 예후 등을 연구하는데 유용하며, 암발생과 관련된 유전자를 규명하고 분석하는데 유용하나 해상도가 20Mb 정도로 감별력이 낮아, 변형된 유전자가 존재하는 위치를 정확히 검출해 내지 못한다는 단점이 있다.

최근 이용되고 있는 array 기반 비교 유전체 보합법(array based comparative genomic hybridization, array-CGH)은 새로운 CGH 방법으로, 종양조직의 DNA와 정상 DNA를 정상 중기 염색체에 결합시키는 대신 microarray template에 결합시키는 방법이다. Microarray template는 암유전자를 포함한 모든 유전자의 정확한 위치를 아는 클론을 배열한 슬라이드이므로 array-CGH는 통상적인 CGH에 비해 증가하거나 감소한 염색체 위치를 정확히 알 수 있다. 그리고 기존의 CGH에 비하여 1~2Mb의 높은 해상력을 갖는다.^{5,6)} 뿐만 아니라 array-CGH는 유전자의 증가와 감소를 직접 확인할 수 있으므로 관련된 암유전자와 암억제유전자를 선별할 수 있어 암의 발달 과정을 이해하는데 도움이 된다.⁷⁾

두경부 편평상피세포암은 성인에서 흔히 발생하는 암의 하나로서, 전 세계적으로 암에 의한 사망 중 약 5%가 이에 의한 것으로 보고되어 있으며, 그 중 후두암은 두경부 편평상피세포암의 가장 흔한 형태로 알려져 있다.⁸⁾ 근래에 들어 암을 진단하고 치료하는 데 있어 많은 발전이 이루어졌음에도 불구하고 두경부 편평상피세포암 환자들의 예후는 아직 불량하여, 수술이 가능한 환자들의 5년 생존율은 40% 미만이고 수술이 불가능한 환자들의 5년 생존율은 20%에 미치지 못하고 있는 실정이다.⁹⁾ 따라서, 두경부 편평상피세포암에 대한 좀 더 체계적인 세포유전학적 이해를 통해 특정 원형암유전자와 암억제유전자가 암발생의 중대한 시기에 어떤 역할을 할 것인가에 대해 알 수 있다면 새로운 진단 및 치료 방법의 개발에 큰 도움이 될 것이다.¹⁰⁾ 전세계적으로 array-CGH를 이용하여 두경부 편평상피세포암의 염색체 이상을 분석한 연구는 많지 않다. 또한, 두경부 편평상피세포암의 아형(subtype)에서 특정 염색체 또

는 유전자의 변화에 대해 연구한 예는 매우 드물다. 이에 본 연구에서는 array-CGH를 이용하여 후두암의 발생 및 진행과 관련된 염색체 및 유전자의 이상을 밝히고자 하였다.

연구재료 및 방법

1. 후두암 및 정상조직의 유전체 DNA 추출

이화여자대학교 부속 목동 의료원에서 후두암으로 진단된 환자 9명의 동의하에 종양 조직으로부터 유전체 DNA를 추출하였다(Table 1). 또한, 종양 조직에 대하여 암세포가 없는 것으로 확인된 정상 조직을 함께 수집하여 DNA를 추출하였다. 유전체 DNA는 Wizard genomic DNA purification kit(Promega, Madison, WI, U.S.A)를 이용하였다. 수집된 종양 조직을 clean bench에서 petri dish에 놓고 오염된 혈액을 제거하면서 잘게 자른 후, RPMI 1640 배지에 담아 15mL 튜브에 옮겨 놓았다. 핵 분해 용액 600 μ L를 1.5mL 튜브에 분주하여 냉동실이나 얼음에 15~20

Table 1. The patients data

Name	Site	Sex/Age	Stage(TNM)
L1	Epiglottis	M/48	IV (T2N2bMx)
L2	Glottis	M/53	IV (T4aN1M0)
L3	Glottis	M/65	I (T1aN0M0)
L4	Supraglottis	M/65	IV (T3N2bM0)
L5	Glottis	M/52	III (T3N0M0)
L6	Glottis	M/67	I (T1N0M0)
L7	Glottis	M/69	IV (T4aN2bM0)
L8	Glottis	M/60	I (T1N0M0)
L9	Glottis	M/66	II (T2N0M0)

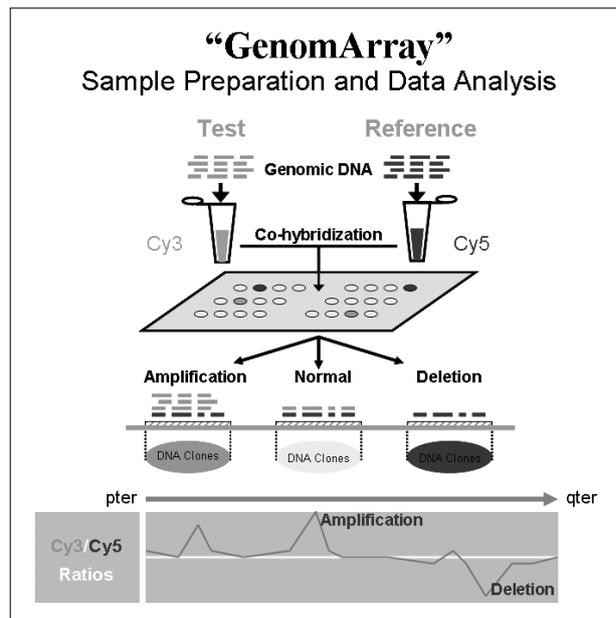


Fig. 1. The summary of procedure of "GenomeArray". This picture was offered by Macrogen company in Seoul, Korea.

Table 2. Gained clones in laryngeal squamous cell carcinomas observed by array-CGH

Chromosome	Gene	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	Log(2)ratio	Function	Frequency (%)
2q34	<i>MAP2</i>										0.2551– 0.2825	Microtubule-associated protein 2	44
3p11.2-3p11.1	<i>EPHA3</i>										0.2874– 0.5953	Tyrosine kinases	44
3q26.2	<i>EV11</i>										0.2826– 0.4043	Upregulates cell proliferation	44
3q26.2	<i>LOC389174</i>										0.2516– 0.2659	Unknown	44
3q26.31	<i>NAALADL2</i>										0.2572– 0.3062	Unknown	44
3q27.3	<i>MASP1</i>										0.2503– 0.2551	Mannan-binding lectin-associated serine protease	33
5p15.33	<i>AHRR</i>										0.2568– 0.3021	Aryl hydrocarbon receptor repressor	33
6q13	<i>KCNQ5</i>										0.3215– 0.5330	Potassium channel opener	33
11p15.3	<i>USP47</i>										0.2503– 0.2550	Unknown	44
18q23	<i>CTDP1</i>										0.2776– 0.2951	C-terminal-domain phosphatase	44
3q24	<i>ZIC1, ZIC4</i>										0.2541– 0.2830	Unknown	22
4p12	<i>GABRG1</i>										0.2502– 0.2554	Type-A receptors for the neurotransmitter	22
7q31.1	<i>IMMP2L, LRRN3</i>										0.2622– 0.2725	Unknown	22
7q36.3	<i>PTPRN2</i>										0.2829– 0.3014	Protein tyrosine phosphatase	22
9q34.12	<i>ABL1</i>										0.2515– 0.3218	Protein kinase	22
14q12	<i>LOC401767</i>										0.2569– 0.4210	Unknown	22
18q11.2	<i>CABYR</i>										0.2671– 0.3010	Tyrosine kinase	22
18q21.2	<i>POL1</i>										0.2529– 0.2576	Unknown	22
4q25	<i>LOC402183</i>										0.2596– 0.3542	Unknown	22
7p22.3	<i>PRKAR1B</i>										0.2998– 0.3521	Protein kinase	22
4q22.1	<i>GRID2</i>										0.4230	Glutamate receptor	11
2p12	<i>REG1B</i>										0.8037	Regenerating gene product	11
22q11.21	<i>CLTCL1, HIRA</i>										0.8188	Clathrin heavy chain polypeptide	11

분간 넣어두어 혼탁해지면 꺼내어 잘게 자른 조직을 밀이 넓은 피펫을 이용하여 500 μ L 정도 넣고 proteinase K를 10 μ L (10mg/mL) 첨가하여 잘 섞은 후, 55 $^{\circ}$ C에서 하룻밤 처리하였다. 다음 날 RNase 3 μ L를 첨가한 후 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 두었다. 단백질을 침전 용액 300 μ L 첨가하고 철저히 섞은 후 14,000rpm, 실온에서 4~8분간 원심분리 후 상층액을 새 tube로 옮겼다. 이후 100% 에탄올 600 μ L를 첨가하여 잘 섞고 -70 $^{\circ}$ C에서 20분간 둔 후 2,000rpm, 실온에서 2분간 원심분리하였다. DNA 가닥이 눈으로 보이면 상층액을 버리고 70% 에탄올을 1mL 넣고 200rpm, 실온에서 2분간 원심분리하고 상층액을 버렸다. 실온에서 15분

간 건조시킨 후, DNA 양과 비교하여 DNA hybridization solution을 첨가하고 녹였다. 이후 DNA의 농도와 ratio를 측정하였다.

2. Array-CGH

후두암 조직에서 추출한 DNA는 Cy3로 표지하고, 정상 조직에서 추출한 DNA는 Cy5로 표지한 후 cot-1 DNA를 포함한 hybridization buffer에 탐침자를 혼합하여 70 $^{\circ}$ C에서 15분간 변성시킨 후 37 $^{\circ}$ C에서 60분간 미리 결합시켰다. GenomArrayTM (Macrogen, Seoul, Korea)는 4,030개의 BAC (bacterial artificial chromosome) 클론으로 이루어

결 과

진 것으로 FISH를 통해 그 위치가 확인된 microarray template이다. MacArray™karyo 4,000(Macrogen, Seoul, Korea)을 70°C에서 15분간 변성시킨 다음, 혼합된 탐침자와 microarray template를 37°C에서 48~72시간 동안 결합시켰다. 수세용액(50% formamide, 2×SSC)으로 46°C에서 15분간 수세하였고, 2×SSC, 0.1% SDS로 46°C에서 30분간 두었다. 이후 Phosphate Nonidet-P buffer(PN buffer)로 실온에서 15분간 둔 후, 2×SSC로 실온에서 5분간 수세하였다. 실온에서 1분간 차례로 70%, 85%, 100% 알코올에서 탈수한 후 공기 건조하였다.

Image capture와 분석은 ArrayScanner™(Macrogen, Seoul, Korea)와 ArrayAnalysis™(Macrogen, Seoul, Korea)를 이용하였다. Array CGH의 결과는 Cy3/Cy5 fluorescence ratio의 log₂ 값을 구해 0.25 이상인 경우를 염색체 증가로 하였으며, -0.25 이하인 경우를 염색체 감소로 분석하였다(Fig. 1).

아홉 개의 암 조직 모두에서 다양한 염색체 및 유전자의 변화가 관찰되었으며, 다수의 유전자의 증가나 감소가 있음을 확인하였다(Table 2 and 3).

아홉 개의 조직 중 네 개의 조직에서 증가(44%)한 것으로 확인된 유전자는 2q34의 *MAP2*, 3p11.1-p11.2의 *EPHA3*, 3q26.2의 *EVII*, *LOC389174*, 3q26.31의 *NAALADL2*, 11p15.3의 *USP47*, 18q23의 *CTDPI* 등 7개의 유전자였으며, 아홉 개의 조직 중 세 개의 조직에서 증가(33%)한 것으로 확인된 유전자는 3q27.3의 *MASPI*, 5p15.33의 *AHRR*, 6q13의 *KCNQ5* 등 3개의 유전자였다.

가장 흔히 감소한 유전자는 아홉개의 조직 중 여섯 개에서 감소(67%)한 것으로 확인된 8q24.21의 *SRRM1L*, 9q22.31의 *ANKRD19*, 19q13.32의 *FLJ39303* 등의 유전자

Table 3. Lost clones in laryngeal squamous cell carcinomas observed by array-CGH

Chromosome	Gene	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	Log(2)ratio	Function	Frequency (%)
3p13	<i>GPR27, PROK2</i>										-0.2502~ -0.2521	G-protein-coupled receptor	33
3p22.3	<i>ARPP-21</i>										-0.2502~ -0.2531	cyclic AMP-regulated phosphoprotein	33
4p16.3	<i>ZNF141</i>										-0.2541~ -0.2554	Zinc-finger protein	44
8q24.21	<i>SRRM1L</i>										-0.2508~ -0.2567	Unknown	67
9q22.31	<i>ANKRD19</i>										-0.2521~ -0.2538	Unknown	67
11q25	<i>B3GAT1</i>										-0.2506~ -0.3010	Glucuronyltransferase	33
19q13.32	<i>FLJ39303</i>										-0.2821~ -0.2895	Unknown	67
21q22.2	<i>DSCAM</i>										-0.2501~ -0.2522	Cell adhesion molecule	44
3q25.33	<i>WDR56</i>										-0.2621~ -0.2830	Unknown	22
6q23.2	<i>MGC34034</i>										-0.2526~ -0.264	Unknown	22
1q32.1	<i>RAB1F</i>										-0.2588~ -0.3043	Unknown	22
2q36.2	<i>DOCK10</i>										-0.2648~ -0.2829	Dedicator of cytokinesis	22
3q27.3-3q28	<i>LPP</i>										-0.2764~ -0.2730	LIM domain protein	22
7q32.2	<i>UBE2H</i>										-0.2510~ -0.2644	Ubiquitin ligase	22
12p13.31	<i>CD9</i>										-0.2600~ -0.2749	Glycoprotein of the tetraspanin family	22
14q24.3	<i>POMT2</i>										-0.2664~ -0.2685	Membrane receptors for the extracellular matrix	22
16p12.1	<i>GGA2</i>										-0.2531~ -0.2647	Trans-Golgi network (TGN) clathrin adapters	22
18p11.22	<i>VAPA</i>										-0.2688~ -0.2953	Unknown	22
21q22.11	<i>SOD1, SFRS15, HMG14P</i>										-1.0199		11

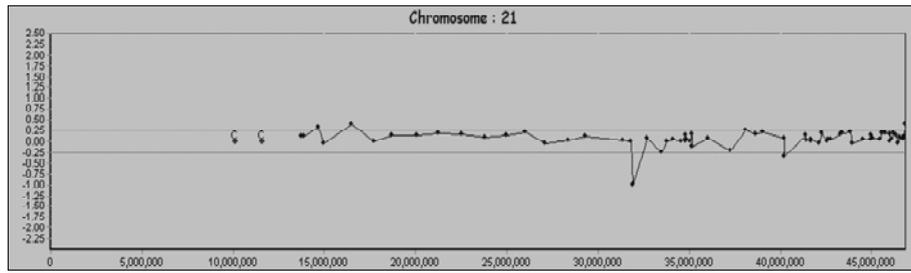


Fig. 2. Fluorescence ratio profile on chromosome 21 of L7 laryngeal squamous cell carcinoma tissues. It is verified that the SOD1, SFRS15, and HMG14P genes on 22q22.11 were lost.

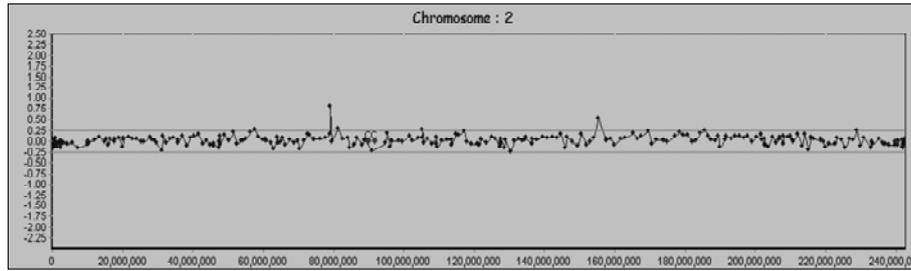


Fig. 3. Fluorescence ratio profile on chromosome 2 of L8 laryngeal squamous cell carcinoma tissues. It is verified that the REG1B gene on 2p12 was gained.

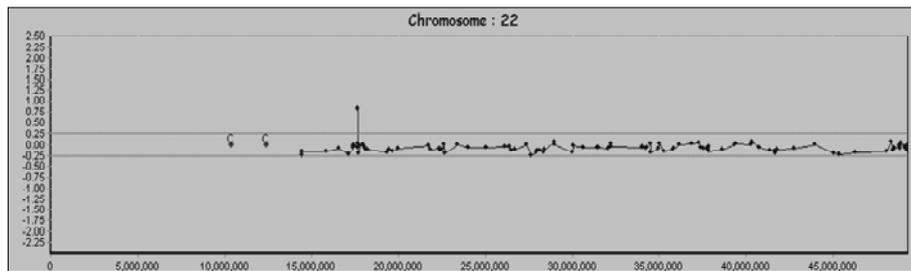


Fig. 4. Fluorescence ratio profile on chromosome 22 of L8 laryngeal squamous cell carcinoma tissues. It is verified that the CLTCL1 and HIRA genes on 22q11.21 were gained.

였으며, 그 외에 네개의 조직에서 감소(44%)한 유전자는 4p16.3의 *ZNF141*, 21q22.2의 *DSCAM* 유전자로 확인되었다. 아홉개의 조직 중 세개의 조직(33%)에서 감소한 유전자는 3p13의 *GPR27*, *PROK2*, 3p22.3의 *ARPP-21*, 11q25의 *B3GAT1* 등 세개의 유전자로 확인되었다.

이상의 결과에 대한 fluorescence ratio profile의 예를 그림으로 나타내었다(Figs. 2, 3 and 4).

고 찰

본 연구에서 가장 흔히 증가하는 것으로 확인된 유전자는 2q34의 *MAP2*, 3p11.1-p11.2의 *EPHA3*, 3q26.2의 *EVII*, *LOC389174*, 3q26.31의 *NAALADL2*, 11p15.3의 *USP47*, 18q23의 *CTDPI* 등으로서 전체의 44%에서 증가한 것으로 확인되었다. 이들 유전자는 아직까지 두경부 편평상피세포암이나 후두암에서 증가한다는 보고가 없는 유전자들이다. 이 중 *EVII* 유전자는 폐암에서 그 발현이 흔히 증가하는 유전자임이 보고되었으며,¹¹⁾ 백혈병, 난소암 등

을 비롯한 다수의 암에서 증가함이 알려진 유전자로서^{12,13)} 본 연구를 통하여 후두암에서도 흔히 증가하는 유전자임을 확인할 수 있었다. 또한, *EPHA3*는 tyrosine kinase gene family에 속하는 유전자로서¹⁴⁾ 이 유전자가 유방암, 폐암, 췌장암에서 돌연변이를 일으킴으로서 이러한 암들의 진단 및 치료에 대한 표적 유전자로서의 가능성이 있음을 보고된 바 있다. 그 외의 유전자들은 아직까지 그 기능이나 암과의 관련성에 대하여 보고된 바 없는 새로운 유전자로서 본 연구를 통해 후두암에서 증가하였음을 처음으로 확인하였다.

그 외에 3q27.3의 *MASPI*, 5p15.33의 *AHRR*, 6q13의 *KCNQ5* 등 3개의 유전자가 전체의 33%에서 증가한 것으로 확인되었다. 이 중 *AHRR*(aryl hydrocarbon receptor repressor) 유전자는 *c-myc mRNA*와 단백질의 농도를 증가시켜 암 유발에 영향을 주는 것으로 보고된 유전자로서 본 연구를 통하여 후두암에서도 증가하는 유전자임을 확인할 수 있었다.¹⁵⁾ *MASPI*, *KCNQ5* 유전자는 아직까지 그 기능이 밝혀진 바 없다.

기존의 연구자들이 후두암에서 흔히 증가하는 것으로 보

고한 염색체 부위는 1p, 9q, 16q 등이었다.¹⁶⁾ 본 연구에서도 비록 공통적으로 증가한 유전자들을 찾을 수는 없었으나 1p, 9q, 16q 등에 위치하는 유전자들이 다수 증가한 것을 확인하였다. 그러므로 이러한 염색체 부위는 후두암의 발생 및 진행과 관련된 유전자가 위치하는 중요한 부위일 것으로 생각하였다.

본 연구에서 가장 흔하게 감소한 유전자는 8q24.21의 *SRMIL*, 9q22.31의 *ANKRD19*, 19q13.32의 *FLJ39303* 등의 유전자로서 전체 조직의 67%에서 감소함을 확인하였다. 그러나, 이들은 아직까지 그 기능이 밝혀진 바 없으며, 또한 암에서 감소함을 확인한 연구도 없었다. 본 연구에서는 그 외에도 4p16.3의 *ZNF141*, 21q22.2의 *DSCAM*, 3p13의 *GPR27*, *PROK2*, 3p22.3의 *ARPP-21*, 11q25의 *B3GAT1* 등의 새로운 유전자도 후두암 조직에서 흔히 감소함을 확인하였다. 기존의 연구에서는 염색체 13q22의 감소가 후두암에서 흔한 양상이며, 특히 전이된 암에서 더 흔히 증가함을 보고하였으나,¹⁶⁾ 본 연구에서는 13q22의 감소는 어떠한 조직에서도 확인할 수 없었다. 이러한 결과를 통하여 한국인 후두암에서는 염색체 13q22의 감소가 흔하지 않은 것으로 판단할 수 있다.

50개의 두경부 편평상피세포암의 분화도에 따른 염색체 이상의 차이를 분석한 기존의 보고에서 분화도가 높은 두경부 편평상피세포암에서는 3p, 5q, 9p의 감소와 3q의 증가가 좀 더 흔하였으며, 분화도가 낮은 두경부 편평상피세포암에서는 4q, 8p, 11q, 13q, 18q, 21q의 감소와 1p, 11q13, 22q의 증가가 흔하였음을 밝힘으로써 이러한 유전적 변이가 두경부 편평상피세포암의 진행과 관련되어 있음을 보고하였다.¹⁷⁾ 그러나, 본 연구 결과에서는 분화도에 따른 염색체와 유전자의 이상이 혼재되어 있어 공통된 차이점을 찾을 수는 없었다. 그러므로 향후 좀 더 많은 조직에 대해 분석한다면 분화도와의 상관성도 밝힐 수 있을 것으로 생각된다.

결 론

본 연구에서는 array-CGH를 이용하여 한국인 후두암의 유전자 이상을 최초로 분석함으로써 후두암의 이상 염색체 부위나 이상 유전자들을 확인하는 데 있어, 기존의 통상적인 CGH의 해상력을 향상시켰을 뿐 아니라, 기존의 보고된 유전자 외에 새로운 유전자들을 대량 발굴하였음에 그 의의가 있다고 판단된다. 그러나 증가하거나 감소한 것으로 확인된 유전자의 대부분은 아직까지 두경부암이나 후두암과의 관련성이 보고된 적 없는 새로운 유전자들이었다. 그러므로 array-CGH로 확인된 유전자들은 더 정확한 발현 양상을 규명하기 위해, 보고된 유전자를 탐침자로 하여

두경부 편평상피세포암 조직에 대한 FISH를 시행하여 발현 양상을 확인하거나, 이형접합성소실 등을 시행하여 유전자의 기능 상실에 대한 연구를 시행하는 것이 필요하다.

또한 본 연구에서 증가 혹은 감소한 것으로 알려진 유전자에 의한 단백질의 발현이 증가하거나 감소하는지에 대한 후속 연구를 시행함으로써 후두암 발생 또는 진행과 관련된 유전적 지표를 규명하는 추가적 연구가 필요하다고 생각한다.

중심 단어 : 편평 상피암 · 유전자이상 · Array-CGH.

References

- 1) Bishop JM. *The molecular genetics of cancer*. Science. 1987; 235:305-311.
- 2) Houldsworth J, Mathew S, Rao PH, Dyomina K, Louie DC, Parsa N, et al. *REL proto-oncogene is frequently amplified in extranodal diffuse large cell lymphoma*. Blood. 1996;87:25-29.
- 3) Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, et al. *Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors*. Science. 1992;258: 818-821.
- 4) Kallioniemi OP, Kallioniemi A, Piper J, Isola J, Waldman FM, Gray JW, et al. *Optimizing comparative genomic hybridization for analysis of DNA sequence copy number changes in solid tumors*. Genes Chromosome Cancer. 1994;10:231-243.
- 5) Pinkel D, Seagraves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D, et al. *High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays*. Nat Genet. 1998;20:207-211.
- 6) Hui AB, Lo KW, Yin XL, Poon WS, Ng HK. *Detection of multiple gene amplifications in glioblastoma multiforme using array-based comparative genomic hybridization*. Lab Invest. 2001;81: 717-723.
- 7) Liu C, Lin S, Chen Y, Chang K, Chang K. *Array-comparative genomic hybridization to detect genomewide changes in microdissected primary and metastatic oral squamous cell carcinomas*. Mol Carcinog. 2006;45:721-731.
- 8) Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. *Cancer Statistics, 1998*. CA Cancer J Clin. 1998;48:6-29
- 9) Vokes EE, Kies M, Haraf DJ. *Induction chemotherapy followed by concomitant chemoradiotherapy for advanced head and neck cancer: Impact on the natural history of the disease*. J Clin Oncol. 1995;13:876-880
- 10) Gollin SM. *Chromosomal alterations in squamous cell carcinomas of the head and neck: Window to the biology of disease*. Head Neck. 2001;23:238-253
- 11) Choi YW, Choi JS, Zheng LT, Lim YJ, Yoon HK, Kim YH, et al. *Comparative genomic hybridization array analysis and real time PCR reveals genomic alterations in squamous cell carcinomas of the lung*. Lung Cancer. 2006;14:Epub ahead of print.

- 12) Sunde JS, Donniger H, Wu K, Johnson ME, Pestell RG, Rose GS, et al. *Expression profiling identified altered expression of genes that contribute to the inhibition of transforming growth factor-beta signaling in ovarian cancer. Cancer Res.* 2006;66:8404-8412.
- 13) Bacher U, Schnittger S, Kern W, Trenn G, Weisser M, Haferlach T, et al. *Acute myeloid leukemia (AML) with t(8:21)(q22;q22) relapsing as AML with t(3:21)(q26;q22). Cancer Genet Cytogenet.* 2006;168:172-174.
- 14) Wood LD, Calhoun ES, Silliman N, Ptak J, Szabo S, Powell SM, et al. *Somatic mutations of GUCY2F, EPHA3, and NTRK3 in human cancers. Hum Mutat.* 2006;27:1060-1061.
- 15) Yang X, Liu D, Murray TJ, Mitchell GC, Hesterman EV, Karchner SI, et al. *The aryl hydrocarbon receptor constitutively represses c-myc transcription in human mammary tumor cells. Oncogene.* 2005;24:7869-7881.
- 16) Schlade-Bartusiak K, Stembalska A, Ramsey D. *Significant involvement of chromosome 13q deletions in progression of larynx cancer, detected by comparative genomic hybridization. J Appl Genet.* 2005;46:407-413.
- 17) Bockmühl U, Wolf G, Schmidt S, Schwendel A, Jahnke V, Dietel M, et al. *Genomic alterations associated with malignancy in head and neck cancer. Head Neck.* 1998;20:145-151.