

구강 백반증의 유전적 이상과
구강암 이행과의 연관성

연세대학교 대학원

치 의 학 과

길 태 준

구강 백반증의 유전적 이상과 구강암 이행과의 연관성

지도교수 차 인 호

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2011년 1월 일

연세대학교 대학원

치 의 학 과

길 태 준

길태준의 석사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2011년 1월 일

감사의 글

먼저 제 삶 가운데 항상 함께 하시는 하나님께 감사 드립니다. 사랑하는 아내와 부모님과 형에게도 깊은 감사를 드립니다.

석사 과정 동안 부족한 저를 끊임 없이 이끌어 주시고 지도해 주신 차인호 교수님께 진심으로 감사 드립니다. 또한 이 논문이 나오기까지 많은 관심과 조언으로 세심하게 보완해 주신 김형준 교수님과 남웅 교수님께도 깊이 감사 드립니다.

구강악안면외과에 들어와 배우고 생활하는 가운데 많은 가르침을 베풀어 주신 이충국 교수님, 박형식 교수님, 이상휘 교수님, 강정완 교수님, 정영수 교수님, 민연숙 교수님, 최은주 선생님께 진심으로 감사 드립니다.

3년이라는 시간 동안 저의 수련 생활을 풍성하게 해 준 네 명의 동기들, 김소미, 김현우, 남정우, 함태훈에게 고마움을 표합니다. 아울러 의국 선후배들에게도 깊이 감사 드립니다.

이 마음 간직하여 구강악안면외과 의사로서 의미 있는 삶을 살도록 노력하겠습니다. 감사합니다.

2011 년 1 월

길 태 준

차 례

차례	i
그림 및 표 차례	ii
국문요약	iii
I. 서 론	1
II. 연구재료 및 방법	4
1. 조직 표본 수집	4
2. 파라핀 블록 절단 및 DNA 추출	5
3. Copy number variation 분석	5
III. 결 과	10
1. 임상 소견	10
(1) 연령 및 성별 분포	10
(2) 추적 관찰 기간	10
(3) 발생 부위별 분포	10
2. Copy number variation의 빈도	12
3. Copy number variation의 유형	13
IV. 고 찰	16
V. 결 론	23
참고문헌	24
영문요약	32

그림 차례

Figure 1. Cycle threshold (Ct)	8
--------------------------------------	---

표 차례

Table 1. Characteristics of patients	5
Table 2. Taqman copy number assay	7
Table 3. Non-progressing epithelial dysplasia	11
Table 4. Progressing epithelial dysplasia.....	12
Table 5. Copy number variation in DNA from epithelial dysplasia	14
Table 6. Summary of copy number variation for all samples	15

국문요약

구강 백반증의 유전적 이상과 구강암 이행과의 연관성

구강 백반증(oral leukoplakia)은 구강 전암 병소(oral premalignant lesion) 중 가장 많은 비율(85%)을 차지하고, 그 중에서 약 4~15%가 구강암으로 이행되는 것으로 알려져 있다. 이러한 악성 이행(cancer progression)을 일으키는 구강 전암 병소의 생물표지자(biomarker)를 찾기 위한 다양한 연구들이 이루어져 왔다.

저자는 구강 상피 이형성(epithelial dysplasia) 중에서 구강암으로 이행되는 병소가 갖는 특징을 찾고자 상피 이형성의 유전적 이상(genetic abnormality)을 copy number variation(CNV) 분석을 통해 관찰하였다.

병리 조직학적으로 상피 이형성(epithelial dysplasia)이 확인된 27명의 백반증 병소를 평가하였으며, 20명은 4년 이상 추적관찰 했을 때 구강암이 발병하지 않은 환자(non-progressing epithelial dysplasia)이고, 7명은 백반증 병소와 동일 부위에서 구강암이 발병한 환자(progressing epithelial dysplasia)이다. Formalin-Fixed Paraffin-Embedded(FFPE) 표본에서 DNA를 추출했고, Taqman copy number assay를 이용하여 CNV의 위치와 빈도, 그리고 유형을 관찰하였다.

본 연구를 통해 구강 상피 이형성에서 구강암으로 이행되는 병소에서는 주로 3p, 9p와 13q 위치에서 CNV가 나타난다는 것과, CNV가 여러 위치에서 나타나는 것이 이행성 병소가 갖는 특징임을 확인하였다. 악성 병소로 이행되는 구강 백반증이 갖는 유전적 이상을 알면 조직병리학적 진단만으로는 예상할 수 없는 이행 위험성(progression risk)을 알 수 있다. 결과적으로 구강 백반증 중에서 구강암으로 이행 될 가능성이 높은 병소를 찾고, 적극적으로 치료하고 면밀히 추적 관찰 하는데 도움이 될 것이다.

핵심되는 말 : 복제수 변이, 구강 백반증, 유전적 표지자, 악성 이행

구강 백반증의 유전적 이상과 구강암 이행과의 연관성

<지도교수 차 인 호>

연세대학교 대학원 치의학과

길 태 준

I. 서 론

구강 백반증(oral leukoplakia)은 구강 전암 병소(oral premalignant lesion, OPL) 중 가장 많은 비율(85%)을 차지한다(Neville, 2009). 그 중에서 약 4~15%가 구강암으로 이행되는 것으로 알려져 있다(Reibel, 2003; Saito et al., 2001; Schepman et al., 1998; Silverman et al., 1984). 구강 백반증의 잠재적 악성도를 결정하는 기준은 주로 상피 이형성(epithelial dysplasia)의 유무와 정도에 기초한다. 이러한 기준을 이용하여 구강 백반증을 조직병리학적으로 분류하고, 구강암 발생 위험에 따라 상피 과형성(epithelial hyperplasia), 경도 상피 이형성(mild epithelial dysplasia), 중등도 상피 이형성(moderate epithelial dysplasia), 고도 상피 이형성(severe epithelial dysplasia)으로 분류 한다. 그러나 초기 병소(경도 및 중등도 상피 이형성)가 구강 백반증의 대부분을 이루고, 일부만이 악성 병소로 이행되며, 조직병리학적 단독 평가로는 잠재적 악성도를 정확히 예측할 수 없기 때문에 보다 신뢰할 수 있는 지표가 필요하다.

구강 백반증의 악성 이행(cancer progression)과 관련된 생물표지자(biomarker)를 찾기 위한 다양한 연구들이 이루어져 왔다. 그 중 하나는 비정상 세포와 관련된 유전적 변화를 찾는 것이며, 이를 확인하기 위한 확립된 방법은 array comparative genomic hybridization (aCGH), 단일 염기 다형성(single nucleotide polymorphism <SNP>) array, copy number assay 등을 이용하여 병소 표본에서 나타나는 염색체 이상을 찾는 것이다(du Manoir et al., 1993; Kallioniemi et al., 1992; Mayo et al., 2010; Pinkel and Albertson, 2005; Wang et al., 2007).

인간의 유전자는 일반적으로 두 개의 복제수(copy)를 갖지만 유전자에 따라 하나, 둘, 또는 세 개의 복제수를 갖는 경우가 보고되고, 간혹 유전자 전체가 결손된 경우도 발견되는데, 이를 copy number variation(CNV)이라고 한다. CNV는 복제(duplication)나 결손(deletion)에 의한 DNA 절편의 1 Kb(kilobase) 이상의 copy number 변화를 의미한다(오정환과 Ichiro, 2008; Feuk et al., 2006). CNV는 유전체의 다형성(polymorphism)에서 매우 큰 부분을 차지하며, 특정 부위의 CNV는 질환의 직접적인 원인이 되거나 질병 감수성 인자로서 작용한다. CNV 구역의 유전자가 절단 또는 융합되어 유전자 전사 또는 번역 수준에서의 변이를 가져오고 결국 표현형이 변화되어 질환을 유발하게 된다(Feuk et al., 2006).

구강암으로 이행 되는 것과 연관된 중요한 유전적 변화를 알아보는 연구 방법 중 하나는 구강암으로 이행되는 구강 전암 병소와 이행되지 않는 병소의 유전 정보를 비교하는 것이다. 결정적인 조절 유전자의 변이가 악성 이행의 기초가 되므로, 악성으로 이행되는 병소와 그렇지 않는 병소는 비록 조직병리학적으로 유사하더라도 유전적으로 다를 수 있다. 이러한 차이점을 밝히는 것이 초기 병소의 악성 이행을 예측하는데 유용한 유전적 표지자(genetic marker)를 제공해 준다. 결과적으로 임상적은 초기 구강 전암 병

소를 갖는 환자들 중에서 누구를 좀 더 적극적으로 치료할 것인지를 결정할 수 있게 된다.

현재까지 구강 전암 병소에 대한 연구는 매우 제한적이었다. 그 이유는 표본의 숫자가 적고, 진단하기에 적절한 검체를 얻기 어렵고, 병소의 장기간의 추적 관찰을 요하며, 매우 작은 병소와 미소한 양의 DNA를 이용해서 연구하는 것과 연관된 기술적 문제가 있기 때문이다. 그러나 이러한 어려움에도 불구하고 구강 전암 병소에서 자주 나타나는 유전적 변형이 증명되었고, 편평 상피 세포암에서 일반적으로 나타나는 몇몇 변형(결손) 영역이 상피 이형성 병소나 때로는 상피 과형성 병소에서도 관찰되었다(Califano et al., 1996; Emilion et al., 1996; Roz et al., 1996). Califano 등 (1996)이 두경부 암에서 나타나는 유전적 변형 모델을 처음 제시하였다. 그들은 3p와 9p21 위치의 손실(loss)은 악성 이행(cancer progression)의 가장 초기 단계에 나타나는 유전적 변화라는 것과, 양성 상피 과형성 병소부터 구강암에 이르는 악성 이행 단계에 따라 염색체 이상의 범위가 증가하는 것을 보고하였다. 또한 여러 연구들에서 고도의 병소 뿐만 아니라 상피 과형성과 상피 이형성 병소, 즉 초기 구강 백반증에서도 3p와 9p를 비롯한 염색체의 여러 부위에서 이형접합체 소실을 보이는 것으로 확인되었다(Califano et al., 1996; Garnis et al., 2009; Ha et al., 2002; Partridge et al., 1998; Partridge et al., 1997). 이는 구강 백반증의 악성 이행을 예상하는 표지자로서 유전적 이상이 갖는 잠재적 효용성을 시사 해준다.

본 연구의 목적은 1) 구강 백반증에서 나타날 수 있는 유전적 이상을 copy number assay을 이용하여 밝혀내고 2) 구강 백반증을 갖는 환자 중 구강암으로 이행된 환자와 4년 이상 추적 관찰에서 구강암으로 이행되지 않은 환자를 비교하여 각각의 유전적 이상 차이를 확인 하는 것이다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 조직 표본 수집

본 연구에서 사용된 Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) 조직 표본은 연세대학교 치과대학 구강병리학 교실에 보관된 자료를 이용하였다. 모두 경도 및 중등도의 상피 이형성을 갖는 구강 백반증 병소를 이용하였으며, 고도 상피 이형성 병소의 경우 이미 악성으로 많이 이행된 것이므로 연구 대상에서 제외하였다.

표본은 두 개의 군으로 나누었다. 첫 번째 군은 경과 관찰 기간 중 두 경부암으로 이행되지 않은 환자에서 얻은 구강 백반증 병소이며 이를 “비이행성 병소” 라고 하였다. 표본 지정의 기준은 구강 병리학자가 경도 혹은 중등도의 상피 이형성으로 진단한 것이다. 첫 번째 군은 초기 상피 이형성 병소를 갖는 20명의 환자이다.

두 번째 군은 “이행성 병소” 라고 하였고, 초기 상피 이형성 병소를 갖는 환자 가운데 추적 관찰하던 중에 구강암이 발병한 7명이다. 병리 기록과 환자 기록을 통해 선행하는 상피 이형성 병소와 나중에 발병한 구강암 병소가 해부학적으로 동일한 위치에서 발생한 것을 확인하였다. 또한 최초 구강 백반증 병소와 악성 병소의 발병 시기가 6개월 이상 차이 나는 것만 연구에 포함시켰다. 구강암으로 이행된 증례는 모두 조직병리학적으로 진단된 것에 한하였다.

비이행성 병소와 이행성 병소의 표본 집단에서 성별, 연령 분포는 표 1과 같다.

표 1. Characteristics of patients

	Non-progressing epithelial dysplasia	Progressing epithelial dysplasia
Sex (Male/Female)	15 / 5	3 / 4
Age (Mean, year)	52	62

2. 파라핀 블록 절단 및 DNA 추출

27개의 파라핀 블록을 microtome을 이용하여 20 μ m 두께로 약 10회 절단하여 절편을 얻었다. DNA 추출을 위해 xylene으로 파라핀을 제거하였고, ethanol로 세척하였다. 그 후 proteinase K를 첨가한 뒤 56℃에서 배양하여 용해시키고, 포르말린 교차결합(formalin crosslinking)을 복귀(reverse)시키기 위해 1시간 동안 90℃에서 배양하였다.

3. Copy number variation 분석

27개의 FFPE 조직 표본에서 얻은 genomic DNA(gDNA)를 이용하여 CNV 분석을 시행하였고, 표 2와 같이 8개의 유전자 영역에서 assay를 선택하였다. 각각의 FFPE 표본에서 얻은 gDNA와 Taqman copy number assay(Life technologies corporation, Carlsbad, CA, USA)와 Taqman copy number reference assay(Life technologies corporation, Carlsbad,

CA, USA)를 하나의 well에 넣고, duplex real-time polymerase chain reaction(RT-PCR)을 수행하였다. PCR cycle은 95℃에서 10분, 95℃에서 15초간 40회, 60℃에서 1분간 유지하는 7900 HT PCR system(Life technologies corporation, Carlsbad, CA, USA)을 사용하였다.

2. Taqman copy number assay

Cytoband	Gene symbol	Gene name	Assay location	Gene function	Assay ID
7	9p21.3c	CDKN2A cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (melanoma, p16, inhibits CDK4)	chr9:21976994	CDK inhibitor	Hs04367145_cn
			chr9:21987690		Hs03717798_cn
	11q13.3d	CCND1 cyclin D1	chr11:69466166	Regulate CDK kinase	Hs02666923_cn
			chr11:69469088		Hs01978234_cn
	17p13.1c	TP53 tumor protein p53	chr17:7572767	Regulate cell division	Hs02821479_cn
			chr17:7578588		Hs06423639_cn
	3p21.31a	RASSF1 Ras association (RalGDS/AF-6) domain family member 1	chr3:50367666	Multiple function of tumor suppression	Hs02560777_cn
			chr3:50370782		Hs03490926_cn
	3p14.2c	FHIT fragile histidine triad gene	chr3:60249964	Diadenosine triphosphate hydrolase	Hs03499888_cn
			chr3:60192696		Hs03469498_cn
8	8p21.3c	LPL lipoprotein lipase	chr8:19802042	Instructions for making an enzyme	Hs03689798_cn
			chr8:19823926		Hs00778029_cn
	18q21.2a	SMAD4 SMAD family member 4	chr18:48568378	TGF- β TF	Hs06436145_cn
			chr18:48605262		Hs02599864_cn
	13q14.2b	RB1 retinoblastoma 1	chr13:48884045	Transcriptional repression; control of E2Fs	Hs07038675_cn
			chr13:48938126		Hs06369868_cn

Copy number assay는 목표 유전자(target gene) 서열을 증폭시키고, reference assay는 배수 유전체(diploid genome)에서 두 개의 copies로 이루어진 것으로 알려진 기준 서열(reference sequence)을 증폭시킨다. 본 실험에서는 염색체 14, cytoband 14q11.2에 존재하는 ribonuclease P RNA component H1 (H1RNA) gene (RPPH1)을 기준 서열(reference sequence)로 이용하였다.

Taqman probe가 target gene에 결합할 경우 fluorescent dye(FAM or VIC)가 발현되지만, 결합하지 못할 경우 fluorescent dye가 quencher dye와 근접한 상태로 남아 있게 되므로 dye가 발현되지 않는다.

각각의 표본 안에 존재하는 목표 서열과 기준 서열의 복제 수를 알기 위해 cycle threshold(Ct)를 비교하는 방법을 사용하였다. Cycle threshold란 threshold line과 증폭 곡선의 교차점에 해당하는 PCR cycle을 말한다. Ct 값이 높을수록 DNA 양이 작다고 판단한다. (그림 1)

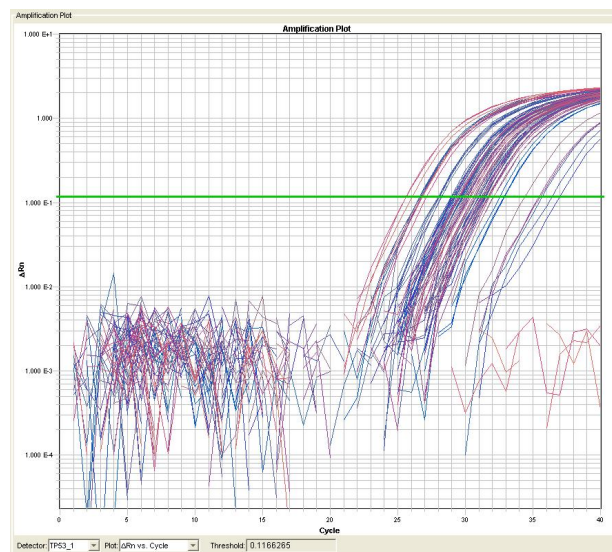


그림 1. Cycle threshold (Ct). The x axis represents the number of cycles and the y axis represents an arbitrary fluorescence unit.

본 실험에서는 목표 서열과 기준 서열의 Ct 값의 차이(ΔCt)를 측정하였다. 실험 표본(test sample)에서 측정된 ΔCt 를, 목표 서열이 두 개의 복제 수를 갖는 참고 표본(calibrator sample)과 비교하였다. 정상 유전자 정보를 갖는 참고 표본으로는 human genomic DNA(Promega Corporation, Madison, WI, USA)를 사용하였다.

RT-PCR 증폭 후 복제 수에 대한 결과 분석은 CopyCaller software (Life technologies corporation, Carlsbad, CA, USA)를 사용하는 comparative Ct($\Delta\Delta Ct$) relative quantitation analysis를 통해 이루어졌다.

DNA 추출과 유전자 이상 분석 과정이 진행되는 동안 표본을 알파벳과 숫자로만 표시하여, 해당 표본이 어느 집단에 속하는지 알 수 없도록 하였다.

III. 결 과

1. 임상 소견

1) 연령 및 성별 분포

전체 환자의 구강 백반증 발생 연령은 25세에서 72세까지 분포하였으며, 평균 연령은 54.3 ± 12.6 세였다. 악성 이행이 없는 환자들이 구강 상피 이형성으로 최초 진단된 때의 평균 나이는 51.7 ± 13.8 세였고, 악성 이행이 있는 환자들이 처음 구강 상피 이형성으로 진단된 때의 평균 나이는 61.6 ± 1.3 세였다.

성비는 악성 이행이 없는 경우가 남자 15명, 여자 5명이었고, 악성 이행이 있는 경우는 남자 3명, 여자 4명이었다.

2) 추적 관찰 기간

악성 이행이 없는 경우 추적 관찰 기간은 평균 6.8 ± 2.4 년이었고 최소 4년이였다. 악성 이행이 있는 경우는 구강 상피 이형성 진단 때부터 구강암 발병까지의 기간이 평균 43.0 ± 36.7 개월이었으며 최소 13개월이었다.

3) 발생 부위별 분포

발생 부위별로는 전체 구강 상피 이형성 27예 중 혀 12예, 협점막 8예, 치은 6예, 구개부 1예였으며, 이 들 중 혀 4예, 치은 2예, 협점막 1예에서 악성 이행이 있었다. (표 3, 4)

⌘ 3. Non-progressing epithelial dysplasia

Patient number	Age	Sex	Site	Follow up (Year)
1	67	M	Buccal mucosa	12
2	60	F	Mn. Gingiva	11
3	52	M	Mn. Gingiva	7
4	53	F	Tongue	7
5	59	M	Tongue	12
6	25	M	Tongue	5
7	38	M	Buccal mucosa	6
8	51	M	Mx. Gingiva	8
9	57	M	Tongue	7
10	24	M	Palate	5
11	67	M	Tongue	6
12	45	F	Mx. Gingiva	6
13	57	M	Buccal mucosa	4
14	40	M	Tongue	4
15	53	M	Buccal mucosa	5
16	68	M	Buccal mucosa	6
17	62	F	Buccal mucosa	5
18	72	F	Tongue	6
19	50	M	Buccal mucosa	9
20	34	M	Tongue	5

Mx : maxilla, Mn : mandible, M : male, F : female

표 4. Progressing epithelial dysplasia

Patient number	Age	Sex	Site	Interval (Month)
21	64	M	Buccal mucosa	45
22	61	M	Tongue	17
23	62	F	Mn. Gingiva	13
24	60	F	Tongue	42
25	62	F	Tongue	54
26	61	F	Tongue	117
27	61	M	Mn. Gingiva	13

2. Copy number variation의 빈도

RT-PCR을 진행한 27개의 구강 상피 이형성 중 4개의 표본(patient number 1,2,5,21)에서 PCR 증폭에 실패하였다. 그 원인으로는 FFPE 표본의 특성 상 DNA가 부족하거나 fragmentation이 많이 된 것을 생각해 볼 수 있다.

CNV 분석을 시행한 전체 23개의 구강 상피 이형성 중 12개(52.2%)에서 CNV가 나타났다. CNV가 나타나는 빈도는 이행성 병소에서 증가하였다. 모든 이행성 병소가 한 군데 이상의 CNV를 보인 반면 비이행성 병소 가운데 42.9%만이 CNV를 보였다.

특히 세 개 이상의 다수의 CNV는 이행성 병소(66.7%)에서 주로 나타났다. 비이행성 병소에서는 드물었다(5.9%). 이행성 병소의 유전적 변화는 평균 3.3 곳에서 나타났지만 비이행성 병소에서 유전적 변화가 나타난 부위는 평균 2.0 곳이었다. (표 5, 6)

3. Copy number variation의 유형

모든 표본에서 CNV가 가장 흔하게 나타나는 부위는 3p와 9p였으며 각각 32.6%, 17.4% 씩 나타났다. 비이행성 병소에서는 3p의 CNV가 가장 흔했다. 이행성 병소에서는 3p, 9p와 13q에서 CNV가 빈번하게 나타났다. 비이행성 병소에서는 3p14와 3p21의 결손이 각각 29.4, 23.5% 씩 나타났다. 반면, 이행성 병소에서는 3p14, 3p21과 9p21의 결손이 모두 50% 씩 나타났다.

비이행성 병소에서 3p 외에 다른 부위의 CNV는 드물게 나타났고 그 부위는 9p, 18q, 17p(모두 5.9%)였다.

3p 외에 다른 부위의 CNV가 나타나는 빈도는 이행성 병소에서 증가했다. 9p의 경우는 약 8배(50%), 18q와 17p의 경우는 약 6배(33.3%) 가량 증가했다. 13q, 11q와 8p의 CNV는 이행성 병소에서만 나타났다. (표 5, 6)

표 5. Copy number variation in DNA from epithelial dysplasia

	비이행성 ^a	이행성 ^a	p ^b
표본 수	17	6	
CNV가 있는 표본 수	6 (35.3)	6 (100.0)	0.014
세 개 이상의 CNV	1 (5.9)	4 (66.7)	0.008
3p14 CNV	5 (29.4)	3 (50.0)	0.621
3p21 CNV	4 (23.5)	3 (50.0)	0.318
9p21 CNV	1 (5.9)	3 (50.0)	0.040
18q21 CNV	1 (5.9)	2 (33.3)	0.155
17p13 CNV	1 (5.9)	2 (33.3)	0.155
13q14 CNV	0	3 (50.0)	0.011
11q13 CNV	0	2 (33.3)	0.059
8q21 CNV	0	2 (33.3)	0.059

^a 괄호 안의 값은 백분율임

^b Fisher' s exact test

⌘ 6. Summary of copy number variation for all samples

Sample number	3p14.2	3p21.31	9p21.3	18q21.2	17p13.1	13q14.2	11q13.3	8p21.3
Non-progressing epithelial dysplasia								
3	+							
4								
6								
7		+			+			
8								
9								
10	+							
11								
12								
13								
14	+	+	+	+				
15	+	+						
16								
17	+	+						
18								
19								
20								
Progressing epithelial dysplasia								
22	+	+	+		+	+	+	
23	+							
24		−	−	−				−
25								−
26					+	+	+	
27	+	+	+	+		+		

+ : copy number gain, − : copy number loss

IV. 고 찰

구강 백반증은 전암 병소에 해당하므로 구강 백반증을 가진 환자를 치료할 경우 주의 깊은 추적 관찰을 필요로 한다. 구강 백반증 중 일부만이 구강암으로 이행되는데, 구강 백반증 중에서 적색(erythematous) 혹은 미란성(erosive) 병소를 포함하거나 verrucoid hyperplastic pattern을 갖거나 상피 이형성을 보이는 경우 악성으로 이행될 위험성이 증가한다(Silverman et al., 1984). 구강 백반증의 치료법을 결정할 때는 이러한 악성 이행의 위험 요소를 포함하여, 제거의 실용성을 고려한 병소의 크기와 환자의 협조도 등을 고려해야 한다.

구강 백반증은 임상적으로 병기를 나누는 기준이 없고 치료가 표준화되어있지 않으므로 수술적 치료의 효용성을 확인할 수 없다. 또한 구강 백반증은 다발적으로 생기고 종종 경계가 불분명하며 다양하게 변형하는 특징을 가지기 때문에 치료하기 어렵다. 상피 이형성을 갖는 구강 백반증을 경도, 중등도, 고도로 나누지만 조직학적 평가만으로 재발 또는 악성 이행 가능성에 대한 예후를 정확히 평가할 수 없다는 것이 치료에 어려움을 더한다.

최근에는 구강 백반증의 예후를 예상하는 생물표지자를 찾기 위한 연구가 이루어지고 있다. 분자적 사건(molecular event)은 각각의 종양이 갖고 있는 근본적인 생물학적 특징을 나타내므로, 분자적 병기 체계(molecular staging system)가 전통적인 임상병리학적 특징에 비해 예후를 예측하는데 더 유리할 수 있기 때문이다(Partridge et al., 1999). 많은 연구자들은 인체의 단백질, 조직, 구조와 기능에 영향을 미치는 유전 정보를 이용하는 유전적 표지자(genetic marker)를 찾고 있다.

CNV는 재배열(rearrange)된 부위 안에 있거나 혹은 가까이 있는 유전자의 발현에 영향을 주는 중요한 다형성(polymorphism)이다(Henrichsen et al., 2009). 인간은 보통 상염색체 부위마다 두 개의 복제수를 갖는데, 결손(deletion), 중복(duplication), 역전(inversion), 전위(translocation)와 같은 유전자 재배열에 의해 CNV가 일어나게 된다. 이들은 단일 복제의 경우보다 더 높거나 낮은 전사(transcription) 수준을 만들어 낸다(Hastings et al., 2009). CNV는 유전자 변형 중에서 현미경으로 볼 수 있는 염색체 변형(microscopic chromosomal alteration)과 단일 염기 변화(single-nucleotide change) 사이의 간격을 연결해 준다(Lee and Scherer, 2010). 1959년 다운 증후군에서 밝혀진 21 trisomy를 시작으로 최근까지 암, 면역 질환, 신경 질환과 같은 유전적 질환이 CNV와 관련되어 있다는 것이 여러 연구를 통해 알려졌다(Lee and Scherer, 2010; Stankiewicz and Lupski, 2010).

CNV를 찾는 방법은 크게 두 가지로 나눌 수 있는데, 본 실험에서 사용한 방법은 RT-PCR을 기반으로 하는 target-specific detection 방식이다. 앞서 설명한 바와 같이 특정 probe가 target gene에 결합하여 PCR 과정을 통해 증폭 될 경우 일정한 신호를 나타내게 된다. Test sample에서 검출된 신호를 control sample과 비교하여 copy number를 추정할 수 있다. 이 방법은 원하는 target gene에 대한 선예도(resolution)가 높고, 한번 제작한 probe를 약 230개의 sample에 대해 반복적으로 사용할 수 있다는 것이 장점이다.

CNV를 확인하는 다른 방법으로는 genome-wide detection 방식이 있고, 대표적으로 array CGH가 여기에 해당된다. Array CGH는 실험군과 대조군의 gDNA에 각기 다른 형광 물질로 표시한 후에 microarray에 hybridization 시킨 후, 나타나는 신호 강도의 증가 또는 감소를 측정하여

CNV를 확인하게 된다. Array CGH 방식에서는 결합하는 probe의 크기와 수에 따라 선예도가 달라진다. 따라서 선예도를 높이기 위해서는 더 많은 수, 더 작은 크기의 probe를 사용하는 array를 선택해야 한다. 또한 한 번 사용한 array를 다시 사용할 수 없으므로 test sample 수가 많을 경우 비용이 증가한다. 하지만 전체 염색체(whole chromosome)를 분석 할 수 있다는 것이 장점이다.

여러 연구들을 통해 두경부 암에서 나타나는 유전체 불균형(genomic imbalance)이 3p, 8p, 9p, 11q, 17p, 13q에서 주로 관찰된다는 것이 알려졌다(Brennan, Boyle, et al., 1995; Brennan, Mao, et al., 1995; el-Naggar et al., 1993; Huang et al., 1999; Maestro et al., 1996; Martin et al., 2008; Nawroz et al., 1994; Nylander et al., 1996; Partridge et al., 1999; Pateromichelakis et al., 2000; van der Riet et al., 1994; Ye et al., 2007). 이 중 3p의 변형은 구강암에서 상당히 자주 나타나는 유전적 변화이고, 이 염색체 부위가 적어도 3개의 종양 억제 유전자(tumor suppressor gene)를 포함한다고 알려져 있다(Maestro et al., 1993; Wu et al., 1994).

구강 전암병소의 염색체 이상에 대해서도 지속적인 연구가 이루어져 왔다. 구강 전암병소와 구강암에서 나타나는 유전적 변형의 부위가 유사하게 나타나는 경우도 있지만 서로 다른 부위도 존재하는 것이 알려졌다(Califano et al., 1996; Garnis et al., 2009). 또한 한 명으로부터 얻은 상피 이형성 병소와 구강암 병소도 서로 다른 대립유전자를 갖는 것이 확인되었다(Partridge et al., 1997).

Mao 등 (1996)이 최초로 구강 백반증에서 나타나는 염색체 이상을 연구하였다. 37명의 환자를 대상으로 3p14와 9p21 영역의 결손을 조사하였고, 해당 부위의 결손이 있는 경우 구강암으로 이행될 가능성이 높아지는 것을 발견하였다. Partridge 등 (1998)은 상피 이형성을 갖는 31개의 구

강 백반증 및 적색반(erythroplakia) 병소를 대상으로 3p21, 8p21-23, 9p21, 13q14.2, 17p13.1, 18q21.1 영역의 대립인자 불균형(allelic imbalance)을 연구하였고, 두 가지 이상의 영역에서 불균형을 갖는 병소가 편평상피세포암종으로 이행될 가능성이 매우 크다는 것을 밝혔다. Rosin 등 (2000)은 초기 구강 전암 병소를 갖는 113명의 환자를 대상으로 염색체 결손부위를 조사하였고 3p와 9p 외에도 4q, 8p, 11q, 17p 부위에서 염색체 결손이 나타날 경우 악성 이행의 위험도가 증가하는 것을 확인하였다. Garnis 등 (2009)은 62개의 구강 전암 병소와 24개의 편평상피세포암종에 대한 aCGH를 수행하였다. 그 결과, 추후에 구강암으로 이행된 정도의 상피 이행성 병소가 갖는 유전적 변형은 고도의 병소에서 나타나는 그 것과 닮았다는 것을 확인하였다. 이는 구강암으로 이행되지 않은 정도의 상피 이행성 병소와 이행된 병소가 조직병리학적으로 유사함에도 불구하고 나타나는 현상이었다. Garnis 등의 연구에서 이행성 상피 이행성 병소 중에서 빈번하게 나타나는 염색체 변형 부위는 9p, 8q, 20p, 20q였다. 한국인을 대상으로 한 연구에서는 p53, p63과 cyclin D1의 단백 발현이 구강 전암병소에서 암 발생 위험도를 예측하는 표지자로서의 가능성이 있다고 하였다 (백지영 등, 2001; 황진하 등, 2002).

본 연구에서는 구강 상피 이행성을 갖는 27명의 환자를 대상으로 병소가 암으로 이행되는 것의 유무에 따라 유전적 변형이 다르게 나타나는지를 CNV 분석을 통해 평가하였고 이를 토대로 하여 구강 전암 병소의 악성 이행을 예상할 수 있는 유전적 표지자를 찾고자 하였다.

본 연구에서는 Taqman copy number assay를 이용하여 비이행성 병소와 이행성병소에서 나타나는 CNV의 차이를 밝혀냈으며, 이로써 CNV 분석에 있어서 copy number assay가 갖는 효용성을 확인하였다. 여러 위치 중에서 3p 위치의 CNV가 비이행성 병소(26.5%)와 이행성 병소(50.0%)

모두에서 가장 많이 나타났다. 이를 통해 3p 위치의 CNV가 상피의 변형과 관계된 중요한 유전적 변화라는 이전 연구들의 결과를 확인 할 수 있다 (Califano et al., 1996; Emilion et al., 1996; Mao et al., 1996; Partridge et al., 1998; Rosin et al., 2000). 또한 이전 연구에서 밝혀진 것과 유사하게, 특정 부위(3p, 9p, 13q, 18q, 17p, 11q, 8p)에서 보이는 다수의 CNV가 이행성 병소에서 보다 많은 빈도로 나타났으므로, 해당 부위의 다수의 유전적 변형은 구강암으로 이행되는 구강 상피 이행성이 갖고 있는 유전적 특징이라고 할 수 있다(Partridge et al., 1998).

유전적 변형이 나타났던 빈도에 있어서 본 연구의 결과는 이전 연구의 그것들과 차이가 있었다. 황 등 (2002)에 의한 연구에서 p53(17p13)의 발현은 악성으로 이행되지 않는 경우 29%, 악성으로 이행되는 경우 43% 씩 나타났으나 본 연구에서는 각각 5.9%, 33.3% 씩 나타났다. 또한 백 등 (2001)은 cyclin D1(11q13)의 발현에 대해 연구하여 악성으로 이행되지 않는 경우 20%, 이행되는 경우 80%의 빈도로 나타난다고 보고하였으나 본 연구에서는 0%, 33% 씩 나타나는 것을 알 수 있었다. Rosin 등 (2000)의 연구에 의하면 3p의 경우 악성으로 이행되지 않는 병소에서 25%, 이행되는 병소에서 64%의 allelic loss가 나타나고 9p의 경우 각각 46%, 83%의 allelic loss가 나타난다고 하였다. 반면 본 연구에서는 비이행성 병소와 이행성 병소에서 3p의 CNV가 각각 26.5%, 50.0%의 빈도로 확인되었고 9p의 경우 각각 5.9%, 50.0%의 CNV가 확인되었다. 3p와 9p에 대한 위와 같은 빈도는 Garnis 등 (2009)에 의한 연구와도 차이를 보인다. 본 연구와 이전 연구들과의 차이, 그리고 이전 연구들마다 나타나는 유전적 이상의 빈도 차이는 실험에 포함된 표본의 수가 적고, 구강 전암 병소를 정의하고 분류하는 방법이 다르며, 분석마다 사용된 방법이 각각 다르기 때문이라고 생각된다.

본 연구에서도 확인된 바와 같이 3p와 9p의 손실이 초기 병소에서 자주 발견되는 점은 이 부위의 유전적 변형이 암 이행 모델의 초기 사건에 관여하는 것임을 알려준다(Califano et al., 1996; el-Naggar et al., 1995). 또한 구강 전암 병소에서 두경부암으로 이행되는 일련의 조직학적 단계에 따라 microsatellite instability와 이형 접합체 소실(loss of heterozygosity)의 양은 증가한다(Califano et al., 1996; el-Naggar et al., 1995; Garnis et al., 2009; Ha et al., 2002; Rosin et al., 2000). 하지만 긴밀하게 연결된 암 진행 단계와 병소 내 다양한 유전적 변화가 한꺼번에 나타날 수 있다는 것을 고려할 때 병소의 이행 단계에 따른 특정 유전적 변화의 순서를 절대적인 기준으로 삼기에는 무리가 있다(Califano et al., 1996; Fearon and Vogelstein, 1990; Garnis et al., 2009). 따라서 본 연구에서 밝혀진 유전적 이상이 상피 이형성과 carcinoma in situ 사이에서만 발생하는 특정한 변형이라고 볼 수는 없다.

이전 연구와 본 연구를 종합해 볼 때, 구강암으로 이행되는 초기 구강 전암 병소에서 나타나는 염색체 이상이 3p와 9p 위치에서 자주 나타나는 것을 알 수 있다. 특히 이행성 병소에서는 3p와 9p를 포함한 다수의 CNV가 동시에 나타나는 것을 확인할 수 있다. 따라서 구강 전암 병소를 가진 환자에서 3p와 9p를 포함하는 몇 개의 위치의 염색체 변형을 검사하는 것은 악성 이행 위험을 평가하는 유용한 방법이 될 것이다. 각각의 병소에서 나타나는 유전적 변형을 전통적인 분류 체계에 따른 악성 이행 위험 요소(progression risk factor)와 결합한다면, 구강 백반증이 악성으로 이행될 잠재적 위험성을 파악하고, 임상적 경과와 예후를 향상시키기 위해 치료 전략을 수립하는 것이 더욱 수월해질 것이다.

향후 고해상도 array를 이용하여 초기 구강 전암 병소를 갖는 다수의 환자를 대상으로 전향적 연구를 시행한다면, 질병의 개시와 이행 과정에 대

한 이해를 높일 수 있고 유전체 이상과 악성 이행의 관계를 정확하게 알 수 있을 것이다. 또한 현재까지 밝혀진 유전체 이상 부위 외에도 유전적 표지자로 사용할 수 있는 추가적인 염색체 부위를 발견할 수 있을 것이다.

아울러 구강 전암병소에서 나타나는 유전적 이상을 구강암에서 나타나는 것과 비교 연구한다면 질병의 개시(initiation)와 이행(progression)을 반영하는 유전적 변화와 종양의 침습(invasion)에 관여하는 유전적 변화 사이에 어떠한 차이점이 있는지 알 수 있을 것이다. 또한 상피 이행성의 예후에 대한 연구는 구강암 절제 후 주변 경계(surgical margin)의 정상 상피 혹은 상피 이행성 조직의 예후 평가, 즉 국소 재발을 예상(prediction of local recurrence)하는 것에 도움을 줄 수 있다(Brennan, Mao, et al., 1995; Califano et al., 1996; Maestro et al., 1996).

하지만 구강 전암 병소의 유전적 변화와 구강암의 이행과의 연관성을 밝히는 연구에서 표본 수가 적고 시간 경과에 따른 연속적인 검체를 얻는 것이 어렵다는 점은 앞으로 극복해 나가야 할 문제이다.

V. 결 론

경도의 상피 이행성을 갖는 구강 백반증 병소 27개를 구강암 이행 여부에 따라 이행성과 비이행성 병소로 구분하고 유전적 이상에 대한 CNV 분석을 시행한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Taqman copy number assay는 구강 백반증에서 나타나는 CNV를 연구하는 방법으로 유용하게 사용될 수 있다.
2. 악성으로 이행되지 않은 구강 상피 이행성 병소와 비교할 때 이행된 병소에서 더 많은 빈도(100%)와 위치(평균 3.3 곳)에서 CNV가 나타났다.
3. 악성으로 이행된 병소에서 주로 나타난 CNV의 유형은 3p14, 3p21, 9p21, 13q14(모두 50%)이다.

이전 연구들과 종합해 볼 때, 염색체 3p와 9p 부분을 포함하는 유전적 이상은 초기 구강 전암 병소의 악성 이행의 위험도를 평가하는데 유용한 표지자로 사용될 수 있다. 위와 같은 유전적 이상을 갖는 환자를 치료할 경우 보다 적극적인 치료 방법을 선택하고, 장기적으로 면밀하게 추적 관찰해야 할 것이다.

참고 문헌

- 백지영, 윤정훈, 육종인, 차인호, 김진. 2001. "구강전암병소에서 암발생 위험도 예측을 위한 cyclin D1 발현 분석". *대한구강악안면병리학회지* 25(1): 1-15.
- 오정환, Ichiro, N. 2008. "인간 게놈의 copy number variation과 유전자 질환". *대한악안면성형재건외과학회지* 30(2): 205-212.
- 황진하, 윤정훈, 차인호, 홍준철, 김진. 2002. "구강전암병소에서 암발생 예측을 위한 p53과 p63의 발현분석". *대한구강악안면병리학회지* 26(4): 315-327.
- Brennan, J. A., Boyle, J. O., Koch, W. M., Goodman, S. N., Hruban, R. H., Eby, Y. J., Couch, M. J., Forastiere, A. A., Sidransky, D. 1995. "Association between cigarette smoking and mutation of the p53 gene in squamous-cell carcinoma of the head and neck". *N Engl J Med* 332(11): 712-717.
- Brennan, J. A., Mao, L., Hruban, R. H., Boyle, J. O., Eby, Y. J., Koch, W. M., Goodman, S. N., Sidransky, D. 1995. "Molecular assessment of histopathological staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck". *N Engl J Med* 332(7): 429-435.

- Califano, J., van der Riet, P., Westra, W., Nawroz, H., Clayman, G., Piantadosi, S., Corio, R., Lee, D., Greenberg, B., Koch, W., Sidransky, D. 1996. "Genetic progression model for head and neck cancer: implications for field cancerization". *Cancer Res* 56(11): 2488–2492.
- du Manoir, S., Speicher, M. R., Joos, S., Schrock, E., Popp, S., Dohner, H., Kovacs, G., Robert–Nicoud, M., Lichter, P., Cremer, T. 1993. "Detection of complete and partial chromosome gains and losses by comparative genomic in situ hybridization". *Hum Genet* 90(6): 590–610.
- el–Naggar, A. K., Hurr, K., Batsakis, J. G., Luna, M. A., Goepfert, H., Huff, V. 1995. "Sequential loss of heterozygosity at microsatellite motifs in preinvasive and invasive head and neck squamous carcinoma". *Cancer Res* 55(12): 2656–2659.
- el–Naggar, A. K., Lee, M. S., Wang, G., Luna, M. A., Goepfert, H., Batsakis, J. G. 1993. "Polymerase chain reaction–based restriction fragment length polymorphism analysis of the short arm of chromosome 3 in primary head and neck squamous carcinoma". *Cancer* 72(3): 881–886.
- Emilion, G., Langdon, J. D., Speight, P., Partridge, M. 1996. "Frequent gene deletions in potentially malignant oral lesions". *Br J Cancer* 73(6): 809–813.

- Fearon, E. R., Vogelstein, B. 1990. "A genetic model for colorectal tumorigenesis". *Cell* 61(5): 759–767.
- Feuk, L., Carson, A. R., Scherer, S. W. 2006. "Structural variation in the human genome". *Nat Rev Genet* 7(2): 85–97.
- Garnis, C., Chari, R., Buys, T. P., Zhang, L., Ng, R. T., Rosin, M. P., Lam, W. L. 2009. "Genomic imbalances in precancerous tissues signal oral cancer risk". *Mol Cancer* 8: 50.
- Ha, P. K., Pilkington, T. A., Westra, W. H., Sciubba, J., Sidransky, D., Califano, J. A. 2002. "Progression of microsatellite instability from premalignant lesions to tumors of the head and neck". *Int J Cancer* 102(6): 615–617.
- Hastings, P. J., Lupski, J. R., Rosenberg, S. M., Ira, G. 2009. "Mechanisms of change in gene copy number". *Nat Rev Genet* 10(8): 551–564.
- Henrichsen, C. N., Chaignat, E., Reymond, A. 2009. "Copy number variants, diseases and gene expression". *Hum Mol Genet* 18(R1): R1–8.
- Huang, M. F., Chang, Y. C., Liao, P. S., Huang, T. H., Tsay, C. H., Chou, M. Y. 1999. "Loss of heterozygosity of p53 gene of oral cancer detected by exfoliative cytology". *Oral Oncol* 35(3): 296–301.

- Kallioniemi, A., Kallioniemi, O. P., Sudar, D., Rutovitz, D., Gray, J. W., Waldman, F., Pinkel, D. 1992. "Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors". *Science* 258(5083): 818–821.
- Lee, C., Scherer, S. W. 2010. "The clinical context of copy number variation in the human genome". *Expert Rev Mol Med* 12: e8.
- Maestro, R., Gasparotto, D., Vukosavljevic, T., Barzan, L., Sulfaro, S., Boiocchi, M. 1993. "Three discrete regions of deletion at 3p in head and neck cancers". *Cancer Res* 53(23): 5775–5779.
- Maestro, R., Piccinin, S., Doglioni, C., Gasparotto, D., Vukosavljevic, T., Sulfaro, S., Barzan, L., Boiocchi, M. 1996. "Chromosome 13q deletion mapping in head and neck squamous cell carcinomas: identification of two distinct regions of preferential loss". *Cancer Res* 56(5): 1146–1150.
- Mao, L., Lee, J. S., Fan, Y. H., Ro, J. Y., Batsakis, J. G., Lippman, S., Hittelman, W., Hong, W. K. 1996. "Frequent microsatellite alterations at chromosomes 9p21 and 3p14 in oral premalignant lesions and their value in cancer risk assessment". *Nat Med* 2(6): 682–685.
- Martin, C. L., Reshmi, S. C., Ried, T., Gottberg, W., Wilson, J. W., Reddy, J. K., Khanna, P., Johnson, J. T., Myers, E. N., Gollin, S.

- M. 2008. "Chromosomal imbalances in oral squamous cell carcinoma: examination of 31 cell lines and review of the literature". *Oral Oncol* 44(4): 369–382.
- Mayo, P., Hartshorne, T., Li, K., McMunn–Gibson, C., Spencer, K., Schnetz–Boutaud, N. 2010. "CNV analysis using TaqMan copy number assays". *Curr Protoc Hum Genet* Chapter 2: Unit2 13.
- Nawroz, H., van der Riet, P., Hruban, R. H., Koch, W., Ruppert, J. M., Sidransky, D. 1994. "Allelotype of head and neck squamous cell carcinoma". *Cancer Res* 54(5): 1152–1155.
- Neville, B. W.: Oral and maxillofacial pathology. 3rd ed. ed. 2009, Saunders, Edinburgh.
- Nylander, K., Schildt, E. B., Eriksson, M., Magnusson, A., Mehle, C., Roos, G. 1996. "A non–random deletion in the p53 gene in oral squamous cell carcinoma". *Br J Cancer* 73(11): 1381–1386.
- Partridge, M., Emilion, G., Pateromichelakis, S., A'Hern, R., Lee, G., Phillips, E., Langdon, J. 1999. "The prognostic significance of allelic imbalance at key chromosomal loci in oral cancer". *Br J Cancer* 79(11–12): 1821–1827.
- Partridge, M., Emilion, G., Pateromichelakis, S., A'Hern, R., Phillips, E., Langdon, J. 1998. "Allelic imbalance at chromosomal loci implicated

in the pathogenesis of oral precancer, cumulative loss and its relationship with progression to cancer". *Oral Oncol* 34(2): 77–83.

Partridge, M., Emilion, G., Pateromichelakis, S., Phillips, E., Langdon, J. 1997. "Field cancerisation of the oral cavity: comparison of the spectrum of molecular alterations in cases presenting with both dysplastic and malignant lesions". *Oral Oncol* 33(5): 332–337.

Pateromichelakis, S., Lee, G., Langdon, J. D., Partridge, M. 2000. "The FHIT gene in oral squamous cell carcinoma: allelic imbalance is frequent but cDNA aberrations are uncommon". *Oral Oncol* 36(2): 180–188.

Pinkel, D., Albertson, D. G. 2005. "Array comparative genomic hybridization and its applications in cancer". *Nat Genet* 37 Suppl: S11–17.

Reibel, J. 2003. "Prognosis of oral pre-malignant lesions: significance of clinical, histopathological, and molecular biological characteristics". *Crit Rev Oral Biol Med* 14(1): 47–62.

Rosin, M. P., Cheng, X., Poh, C., Lam, W. L., Huang, Y., Lovas, J., Berean, K., Epstein, J. B., Priddy, R., Le, N. D., Zhang, L. 2000. "Use of allelic loss to predict malignant risk for low-grade oral epithelial dysplasia". *Clin Cancer Res* 6(2): 357–362.

- Roz, L., Wu, C. L., Porter, S., Scully, C., Speight, P., Read, A., Sloan, P., Thakker, N. 1996. "Allelic imbalance on chromosome 3p in oral dysplastic lesions: an early event in oral carcinogenesis". *Cancer Res* 56(6): 1228–1231.
- Saito, T., Sugiura, C., Hirai, A., Notani, K., Totsuka, Y., Shindoh, M., Fukuda, H. 2001. "Development of squamous cell carcinoma from pre-existent oral leukoplakia: with respect to treatment modality". *Int J Oral Maxillofac Surg* 30(1): 49–53.
- Schepman, K. P., van der Meij, E. H., Smeele, L. E., van der Waal, I. 1998. "Malignant transformation of oral leukoplakia: a follow-up study of a hospital-based population of 166 patients with oral leukoplakia from The Netherlands". *Oral Oncol* 34(4): 270–275.
- Silverman, S., Jr., Gorsky, M., Lozada, F. 1984. "Oral leukoplakia and malignant transformation. A follow-up study of 257 patients". *Cancer* 53(3): 563–568.
- Stankiewicz, P., Lupski, J. R. 2010. "Structural variation in the human genome and its role in disease". *Annu Rev Med* 61: 437–455.
- van der Riet, P., Nawroz, H., Hruban, R. H., Corio, R., Tokino, K., Koch, W., Sidransky, D. 1994. "Frequent loss of chromosome 9p21–22 early in head and neck cancer progression". *Cancer Res* 54(5): 1156–1158.

Wang, K., Li, M., Hadley, D., Liu, R., Glessner, J., Grant, S. F., Hakonarson, H., Bucan, M. 2007. "PennCNV: an integrated hidden Markov model designed for high-resolution copy number variation detection in whole-genome SNP genotyping data". *Genome Res* 17(11): 1665–1674.

Wu, C. L., Sloan, P., Read, A. P., Harris, R., Thakker, N. 1994. "Deletion mapping on the short arm of chromosome 3 in squamous cell carcinoma of the oral cavity". *Cancer Res* 54(24): 6484–6488.

Ye, H., Pungpravat, N., Huang, B. L., Muzio, L. L., Mariggio, M. A., Chen, Z., Wong, D. T., Zhou, X. 2007. "Genomic assessments of the frequent loss of heterozygosity region on 8p21.3–p22 in head and neck squamous cell carcinoma". *Cancer Genet Cytogenet* 176(2): 100–106.

Abstract

The correlation between genetic abnormalities in oral leukoplakia and oral cancer progression

Tae-jun Kil

Department of Dental science

The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor In-ho Cha, D.D.S., M.S.D., Ph.D.)

Oral leukoplakia is the most common oral premalignant lesion(OPL), accounting for 85%. Earlier studies report the risk of cancer progression of 4~15%. Various researches have been performed to find the biomarker of the transforming OPLs.

We evaluated genetic abnormalities at the level of copy number variation to investigate the risk for developing cancer in oral leukoplakias compared with non-progressing oral leukoplakias.

The current study used 27 oral leukoplakias with histological evidence of dysplasia. The first group(progressing dysplasia) consisted of 7 oral lesions from patients with later progression to cancer at the same site. The other group(non-progressing dysplasia) consisted of 20 lesions from patients with no occurrence of oral cancer, had longitudinal follow up (>4 years). We extracted DNA from Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) sample and examined chromosomal loci and frequencies of copy number variations using Taqman copy number assays.

Our study suggests the possibility of predicting cancer progression at the genomic level. Copy number variation(CNV) frequently occurred in progressing dysplasia at 3p, 9p and 13q loci. Our results also indicate that the CNV at multiple loci is the characteristics of progressing dysplasia. The genetic abnormalities of the true precancer demonstrate the progressing risk which cannot be delineated by current histopathologic diagnosis. As a result, the analysis of genetic abnormalities would be helpful for aggressive management, closer follow up, and early detection of invasive lesion.

Key words : copy number variation, oral leukoplakia, genetic marker,
cancer progression