

자궁경부암에 있어서 특이적 염색체변화와 flow cytometry에 의한 핵산 함량분석*

계명대학교 의과대학 해부학교실

장성익 · 정용욱 · 이인환 · 최인장 · 김대광

=Abstract=

Specific Cytogenetic Characteristics and DNA Content Analysis by Flow Cytometry in Cervical Cancer

Sung Ik Chang, MD; Yong Wook Jung, MD; Ihn Hwan Lee, MD;
In Jang Choi, PhD; Dae Kwang Kim, MD

Department of Anatomy, Kyung University,
School of Medicine Taegu, Korea

In order to understand the specific chromosomal changes and DNA content analysis by flow cytometry in cervical cancer of Korean women, firstly we investigated cervical cancer cell line. The chromosomal number of cervical cancer cell line was hyperdiploid and prominent numerical abnormalities were in trisomy 1, 2, 6, 12, 16, 17, 18, 20, 21, 22 and tetrasomy 2. Specific Structural rearrangements were deletion (on 1p22, 2p21, 3p21, 3q11, 6q23, 7p14, 7p21, 10p11, 22q11), translocation (3q11, 10p11), isochromosome (5q) and marker chromosome. Common break points at bands 1p22, 2p21, 3p21, 6q23, 22q11 give rise to the loss of cellular oncogene fgr, src-2, N-myc, raf1, myb, sis respectively.

Key words Chromosome and DNA Content analysis

서 론

Mckusick¹⁾은 유전병의 분류를 단순유전자병, 다인 자성 유전병, 그리고 염색체 이상으로 분류된 것에 체세포유전병(somatic cell genetic disease)를 추가하였다. 여기에 속하는 질환으로는 모든 종양, 노화, 자가면역 및 몇몇 선천성 기형이 포함된다. 그러므로 암은 현재 유전질환의 분류에 포함시키고 있다. 이를 뒷받침하는 것으로 Bishop²⁾은 암이란 유전적 손상에 기인한 유전자의 이상으로 생기는 질환이라고 정의하였다. 따라서 암연구에 있어서 이제는 유전학적 접근은 피할 수 없으며 모든 유전공학적 기술이 암

연구에 이용되고 있다

암세포는 정상세포와 달리 비정상적인 세포조절 기능이 있어 DNA의 양에 변화가 생기며 이런 일련의 암세포의 변화들을 문자수준에서는 유전자클로닝, 유전자표현 및 재배열 등은 유전자 조작기술로 연구되고 있으며 세포수준에서는 세포유전학적 염색체 핵형분석 및 Flow cytometry에 의한 DNA함량분석 등으로 연구되고 있다. 암세포는 정상세포가 유전자 이상이 생겨 발생할 수도 있으며 이러한 유전자의 이상은 염색체 이상을 초래할 수 있다. 따라서 유전자 이상이 생겨 염색체 이상을 초래하던지 염색체 이상을 초래하여 암세포로 형질전환하든지 어떻든 모든 암세포는 분명 염색체 이상을 초래하게 된다.

* 이 논문은 1990년도 계명대학교 갑종연구비에 의하여 이루어졌다.

그러므로 암연구에 있어서 염색체의 핵형분석은 매우 중요한 의미를 지닌다

암과 염색체의 관계는 Nowell과 Hungerford³⁾에 의하여 만성골수성 백혈병(CML)환자의 골수세포에서 22번 염색체의 장완이 소실된 Ph⁽⁺⁾염색체가 발견되면서 연구되어지기 시작했다 Cassperson 등⁴⁾에 의하여 염색체의 band법이 개발된후 Rowley⁵⁾는 Ph⁽⁺⁾염색체는 9번염색체와 22번염색체간의 전좌의 결과 파생된 것이라는 것을 밝혀내어 암의 세포유전학적 연구에 획기적인 공헌을 하였다

일반적인 암의 염색체이상은 이수성(aneupolidy), 전좌(translocation), 결손(deletion), 역위(inversion), 등완염색체(isochromosome) 및 표지염색체(marker chromosome) 등으로 나타난다

자궁경부암에 대한 보고는 Atkin과 Baker⁶⁾가 1번 염색체의 단완의 부분복제(partial duplication)과 장완의 등완염색체를 보고하였으며 또한 Atkin과 Baker⁷⁾가 17번염색체의 부분복제와 등완염색체를 보고하였으며 Verma 등⁸⁾은 5번의 등완염색체를 보고하고 있다

자궁경부암은 부위의 특징상 외부에 노출되어 있고 감염되어있어 암세포배양이 어려운 난점이 있으며 한편 Flow cytometry에 의한 DNA의 정량분석은 암괴를 이루고있는 종양세포 하나하나의 DNA양을 정량적으로 측정할 수 있기 때문에 암의 진단 및 예후판정과 항암제의 감수성 측정등에 유용하게 사용되고 있다 저자들은 자궁경부암 세포에서 염색체이상의 특징을 찾는 동시에 DNA양을 분석한 결과를 보고하고자 한다

재료 및 방법

재료

자궁경부암 세포주(Hela Cell line)

방법

1 세포배양 및 염색체제작

1) 세포배양

자궁경부암 세포를 15% F₁₀배지를 이용하여 37°C CO₂배양기에서 배양하고 세포가 과다하게 증식되었을때는 분주(subculture)하여 다시 배양하였다

2) 세포수확(harvest)

위와같이 배양된 자궁경부암세포주에 colcemid(10

mcg/ml, Gibco제)를 ml당 8uI첨가하여 90분간 배양하고난 다음, 0.5% trypsin과 53mM EDTA가 들어 있는 용액으로 1분간 처리하여 세포들을 petri dish의 표면으로부터 분리한다음 1500rpm의 3분간 원심분리한 다음 인 완충용액(PBS)으로 2번 세척한후에 다시 1500rpm으로 3분간 원심분리한다음 상청액을 제거하고 미리 37°C 수조에 담구어두었던 0.075mKCl 저장액(hypotonic solution)을 5ml첨가하여 37°C 수조에서 15분간 세포들을 팽창시켰다 여기에 미리 준비하여 -20°C냉장고에 보관해둔 고정액(glacial acetic acid methanol=1, 3) 5ml를 첨가하여 pipette를 이용하여 섞어준후 1500rpm으로 3분간 원심분리하여 부유액을 버리고 세포의 덩어리가 회개될 때까지 고정단계를 3~4회 더 실시하였다 이렇게하여 만들어진 세포의 덩어리를, 고정액을 약간량 첨가하여 부드럽게 썩어준후 각각의 세포를 완전히 분리시킨다 다음에 70%알코올에 담구어둔 젖은 slide를 휴지를 이용하여 완전히 닦은다음 두장의 젖은거즈를 완전히 펴고 그위에 slide를 올려놓아 세포들을 Pasteur pipette를 이용하여 2방울 떨어뜨린다

3) Giemsa-band법

위와같은 방법으로 만들어진 slide를 3~4일간 37°C 배양기 혹은 실온에서 말린다음 G-band를 실시하였다 Slide를 60°C 2×SSC용액에 50분간 담구어둔 다음 Soransen씨완충액으로 씻어주고 실온에서 건조시킨후 33ml의 Soransen씨완충액과 17ml의 과산화수소수가 들어있는 용액에 5~7초간 둔다음 즉시 50ml의 중류수에 0.03g trypsin(1,250, Gibco제)이 녹아있는 용액에 1~3초간 둔다음 흐르는 물에 씻어주고 4% Giemsa용액에 8분간 염색을 시행하였다

2) Flow cytometry에 의한 DNA정량분석

배양된 세포를 인 완충용액(PBS)으로 세척한 후 2×10⁶cell/ml로 희석한후 Flow cytometry를 이용하여 컴퓨터로 그려진 도표를 보고 분석하였다

성적

자궁경부암 세포주를 배양후 염색체핵형분석과 Flow cytometry를 이용하여 DNA정량분석을 실시하였다(Fig 1)

1 염색체의 숫자는 표준수치가 56으로서 hyperdiploid의 양상을 나타내었다(Fig 2)

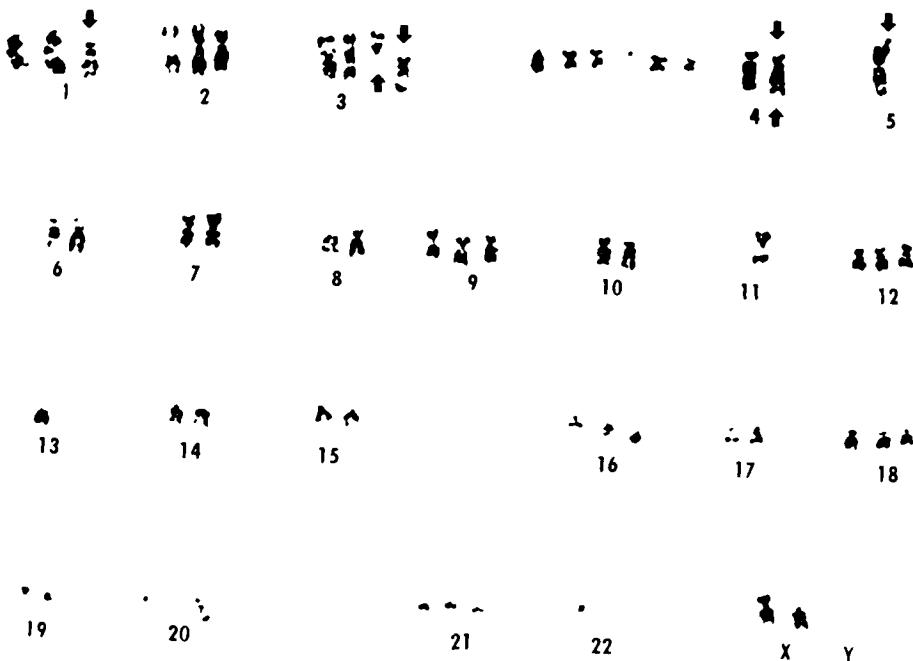


Fig 1 Arrow represent del(1)(p22), del(3)(q11), del(3)(p21) (?, 4 , ?), i(5q)

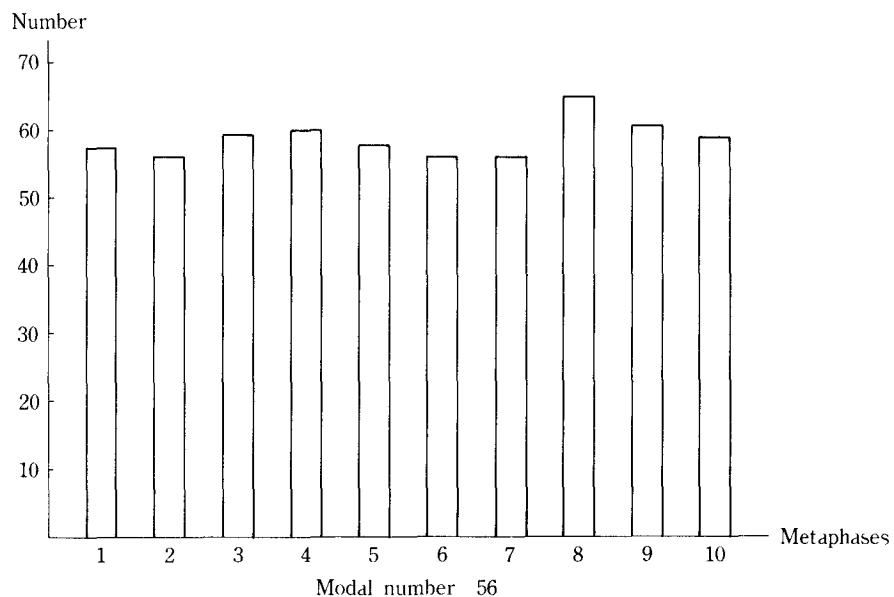


Fig 2 Distribution of chromosome number in cervical cancer cell line

2 염색체의 숫자적인 이상은 전체적으로 삼배체가 대부분(80%)이었고 삼배체를 나타내는 염색체는 1번, 2번, 6번, 12번, 16번, 17번, 18번, 20번, 21번 그리고

22번 염색체이었다(Table 1)

3 염색체의 구조적인 이상은 결손이 가장 많았으며 결손부위는 3번염색체단원(p21)에서 가장 많았으며

Table 1 Numerical chromosomal abnormalities in cervical cancer cell line

Trisomy	1 (40 %) 2 (60 %) 6 (70 %) 12 (50 %) 16 (50 %) 17 (50 %) 18 (50 %) 20 (40 %) 21 (40 %)
Tetrasomy	22 (40 %)
	2 (20 %)

(90 %), 다음이 3q11, 1p22, 10p11에서 중증도(40-50 %)로 나타났으며 그외 2p11, 6q23, 7p21 및 22q11에서도 나타났다(10-30 %). 전좌형은 제3번과 10번(q11,p11)이 가장 많았으며(10 %) 그외 5번염색체 장완의 등원염색체가 있었으며 유래를 알 수 있는 염색체의 전좌로 인해 파생된 표지염색체도 관찰되었다(Table 2)

Table 2 Structural abnormalities in cervical cancer cell line

Deletion	del(1)(p22) (40 %) del(2)(p21) (10 %) del(3)(p21) (90 %) del(3)(q11) (50 %) del(6)(q23) (20 %) del(7)(p14) (20 %) del(7)(p21) (30 %) del(10)(p11) (40 %) del(22)(q11) (40 %) del(22)(q11) (40 %)
Translocation	del(10)t(10,3)(p11,q11)(40 %) del(12)t(12, ?)(qter, ?)(10 %)
Isochromosome	(1 (5q))
Marker chromosome	(? ,4, ?)

4 결손부위에 보고된 암유전자는 3p21에 raf1, 1p22에 fgr, src-2, 2p11에 N-myc, 6q23에 myb 그리고 22q11에 sis가 각각 존재하였다(Table 3)

5 Flow cytometry를 이용한 DNA의 정량분석은 이배수성으로서 near diploidy를 나타내었다(Fig 3)

Table 3 Breakpoints related with Oncogene

Chromosome number	breakpoint	oncogene
	1p22	fgr
		src-2
	2p21	N-myc
	3p21	raf1
	6q23	myb
	22q11	sis

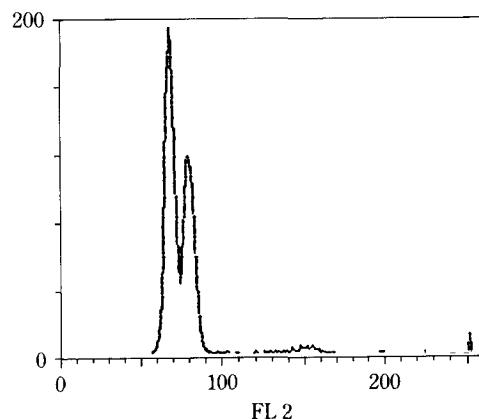


Fig 3 DNA content analysis by Flow-cytometry in cervical cancer cell line

고 찰

암은 여러가지 종류의 유전자손상에 기인한 유전자의 이상으로 생기는 질환이며²⁾ 이러한 유전자의 손상은 암세포에서의 염색체상의 변화로 발견되어 질 수 있다⁹⁾

최근의 연구에 의하면 암의 발생에 있어서 초기 단계의 중요한 변화는 암유전자(oncogene)과 같은 구조적인 유전자에 손상을 줄 수 있는 염색체상의 변화이며 이러한 변화가 정상적인 세포의 성장조절 기전에 영향을 미쳐 암을 발생한다는 것이다^{10,12)} 이것은 결국 암에서 나타나는 염색체상의 이상이 세포의 대사와 핵산의 합성을 관여하는 유전자에 영향을 미친다^{13,14)}는 것이다

어떤 염색체의 획득과 유실은 그 염색체내에 존재하는 유전자의 생성물에 영향을 미칠 수 있으며,¹⁵⁾ 이것은 또한 세포의 분열과 분화에 영향을 미쳐 결과적으로 세포의 무제한적 성장을 촉진하게 된다 또한 염색체의 변화에 의한 유전자의 재배열은 세

포내에서 자연돌연변이에 비율을 증가시켜 세포의 악성종양으로의 전환을 더욱더 촉진하게된다^{16,17)}

암세포에서 일어나는 염색체상의 변화는 크게 세 가지로 분류해 볼 수 있다

첫째는 염색체물질의 유실이 일어나는 경우이며 이러한 변화는 염색체상의 한부분의 결실이나 혹은 전 염색체의 유실(monosomy)로 인해 야기되며 둘째는 염색체 물질의 획득이 일어나는 경우이다 이 상분리(malsegregation)는 삼배체 혹은 다배체(polysom)를 일으킬 수 있으며 특정 염색체 지역 혹은 부분의 복제(duplication)는 비균형적인 유전자 산물의 생성을 가져올 수 있다 세째는 유전자 물질의 양에 변화없이 DNA배열에 변화가 생기는 경우이다 이러한 변화는 염색체간의 재배열(전좌와 삽입)과 염색체내의 재배열(역위와 삽입)으로 인해 나타나며 이러한 DNA배열의 재조합으로 인해 이미 존재하던 유전자가 상실하거나 새로운 합성유전자가 나타날 수도 있으며 유전자의 조절기능이 상실될 수도 있다 이러한 염색체의 변화 가운데 현재는 암세포의 염색체가 가지는 구조적인 변이가 중요시되고 있는데 이것은 만성골수성 백혈병에 있어서 22번 염색체의 장완의 결실로 나타나는 pH⁽⁺⁾염색체의 발견이 시작되었으며⁵⁾ 이후 많은 혈액암과 고형암에서 특이적인 염색체의 구조적인 이상이 관찰되었다 대부분의 종양에 있어서 나타나는 염색체의 구조적인 변화는 비균형 전좌(unbalanced translocation)과 염색체의 유실 혹은 복제에 의한 결손과 등완염색체등이며,¹⁸⁾ 이러한 구조적인 변화는 특히 carcinoma에 있어서는 염색체의 크기가 클수록 더욱더 큰 영향을 받는 것으로 보고되고 있다 예를 들면 1번염색체는 대부분의 암에서 많은 구조적인 변화를 거친다는 것이다 이에 반해 몇몇 염색체는 각각의 특이적인 암에서만 변화를 거치는 것으로 보고되고 있는데 10번 염색체의 전립선암에서의 변화, 18번 염색체의 대장암에서의 변화가 이러한 것들이다 하지만 이러한 각각의 종양에서의 변화도 비록 그 염색체의 번호가 정해져 있다하더라도 그것의 변화양상은 여러가지로 나타날 수 있다 예를들면 상대가 바뀐 전좌, breakpoints, 결실, 복제, 등완염색체등 다양하게 나타날 수 있다는 것이다 하지만 중요한 것은 모든 암에 있어서 공통적으로 나타나는 것은 중요한 기능을 지닌 유전자를 포함하는 염색체의 중요부분들이 이러한 염색체상의 변화의 결과로 지속적인 유실 혹은 복제의 과정을 거친다는 것이다

또한 혈액암에 비해서 고형암의 염색체 변화는 더욱더 복잡하다 이러한 복잡성은 암세포가 주위의 여러단계의 환경조절과 제한을 피해서 악성종양으로 발전하기 위해서 다단계(multiple steps)를 거치는 것과 깊은 연관이 있는 것¹⁹⁾ 같다 이외에도 암세포에서 나타나는 염색체 변화는 혈액암과 고형암 둘다에서 나타나는 telocentric fusion의 결과인 dicentric chromosome²⁰⁾ 유전자 증폭의 결과로 나타나는 DMS(Double Minutes) HSR(Homogenous Staining Region)등이 있다^{21,22)} Fragile site를 포함하는 암의 세포유전학적 현상들은 암에 있어서 breakpoints가 fragile site에서 일어난다는 것을 뒷받침하고 있으며²³⁾ 최근의 연구에서는 염색체 1번(특히)9번, 16번의 이질염색질이 형태증(Heterochromatin heteromorphism)이 암의 위험률과 깊은 연관이 있다는 보고가 나오고 있다²⁴⁾ 그렇다면 암에서의 이러한 염색체상의 변화는 암화과정에 관여하는 것으로 알려진 암유전자와는 어떠한 관련이 있는 것일까?

염색체상의 변화는 분명 암유전자들을 활성화 시키는데 중요한 역할을 하고 있다 예를들면 Burkitt씨 임파종²⁵⁾에 있어서는 8번 염색체의 c-myc암유전자가 14번 염색체의 말단부위로 전좌되어 활성화된것이 밝혀져 있으며 만성골수성백혈병에⁴⁾ 있어서는 c-abl암유전자가 22번 염색체 bcr(break clustering region)에 전좌됨으로서 활성화된다는 것이 밝혀져 있다 현재는 많은 숫자의 암유전자가 활성화되는 기전이 밝혀져 있으며 또한 이들의 위치가 암의 breakpoints와 일치한다는 것이 밝혀져 있다 암유전자가 활성화되는 기전은 종양에 따라서 약간은 다르지만 보통 유전자의 증폭, 유전자의 돌연변이, 전좌의 과정을 거치는 것으로 알려져 있다

이와같은 맥락에서 볼때 나이많은 한국인 여성에게서 많이 나타나는 자궁경부암에 대한 세포유전학조사는 많은 의미를 지닌다고 할것이다

자궁경부암세포에 대한 보고들을 보면 Atkin과 Baker⁶⁾ 1번 염색체의 변화를 보고하였는데 이러한 변화는 숫자인이상(대부분 삼배체)과 모든 종류의 구조적인이상 예를들면 등완염색체, 결실, 복제, 단완 혹은 장완의 전좌 등이었다 또한 Atkin과 Baker⁷⁾는 또다른 보고에서 17번 염색체 단완의 부분복제(17p+)와 장완의 등완염색체등을 이야기하고 17번 염색체등을 이야기하고 17번 염색체는 자궁경부암의 발생에 중요한 유전자를 가지고 있을것으로 발표했다 이외에도 Verma등⁸⁾은 5번의 등완염색체를 자궁

경부암세포의 특이적인 염색체변화로 발표하기도 했다

본 실험 결과에 의하면 자궁경부암세포에서 표준 수치는 56으로써 hyperdiploid의 양상을 띠었으며 숫자인이상 가운데는 1번, 2번, 6번, 12번, 16번, 17번, 18번, 20번, 22번 염색체의 삼배체 2번 염색체의 사배체가 특징적으로 나타났으며 구조적 이상 가운데는 1번, 3번, 7번, 10번, 염색체의 단완의 결실, 10번과 3번 염색체간의 전좌, 5번의 등완염색체, 4번 염색체의 장완 단완에 유래를 알 수 없는 염색체의 전좌가 특징적이었다 이 가운데 1번 염색체의 삼배체와 단완의 결실등은 Atkin과 Baker^{6,7)}등이 보고하는바와 일치하고 있으나 이것이 다른 많은 종양 즉 유방암, 난소암, 방광암 등에서도 많이 나타나며 양성종양에는 나타나지 않는것으로 보아 자궁경부암의 발생과 관계있는 특이적인 염색체변화라고 보기는 어려우며 오히려 이것은 종양의 후기에 악성종양으로의 전환에 관여하는 변화로 생각할 수 있으며 자궁경부암에 있어서는 preinvasive stage에서 invasive stage로 넘어가는데 필요한 변화라고 생각된다 또한 5번 염색체 장완의 등완염색체는 Verma⁸⁾등이 보고한바와 일치하며 이 부분에 위치해있는 정확한 유전자가 밝혀져야 하겠지만 이 부분의 유전자의 종족이 또한 종양의 진행 즉 악성종양으로의 전환에 관여할것으로 생각된다 이외에도 4번염색체의 변이는 전좌된 염색체의 부분이 어디에서 유래되었는지를 정확히 밝혀내어야만 알 수 있겠으나 상당히 높은 빈도로 나타남으로서 자궁경부암 세포의 변이에 어떠한 형태로든 관여할 것으로 생각된다 이러한 염색체의 구조적인 이상 가운데 deletion site 즉 breakpoint와 암유전자의 관계를 살펴보면 1번염색체의 단완의 소실은 fgr, src-2 2번은 N-myc, 3번은 raf1의 암유전자의 결실을 가져올 수 있었으며 6번 염색체 장완의 소실은 myb, 22번은 sis암유전자의 결실을 가져올 수 있었다 하지만 이러한 암유전자의 제 위치에서의 결실된 것만으로는 이들이 어떠한 경로를 밟아 활성화되는지 알 수 없으며 이것은 분자생물학적 시도 즉 southern blotting이나 DNA in situ hybridization등을 통해서 밝혀져야 하겠다

또한 최근에는 다른 방향에서의 암세포에 대한 연구가 시도되고 있는데 그것은 세포성핵산함량을 측정할 수 있는 Flow cytometry의 도입이며 이것의 장점은 과거의 static cytometry에 비해 매우 정확하며, 빠른속도로 결과를 낼 수 있다는 것이다²⁶⁾ 또한

이 방법은 염색체를 제작하지 않고 휴지기 세포(interphases cell)에 직접 적용할 수 있어 세포환단계분포(cell cycle phases distribution)의 통계적인 분석에 필요한 충분한 양의 세포들을 구할 수 있다는 것이다²⁵⁾ 이것의 원리는 대부분의 정상세포들은 이 배수성 핵산 함량(diploid DNA content)을 가지고 있어 single G₁ peak로 나타나며 종양에 있어서는 이수성 핵산함량을 가지는 경우 추가의 G₁ peak가 하나더 나타난다는 것이다 또한 다배수성(multiploid)의 경우에는 하나이상의 추가의 G₁ peak가 나타난다 따라서 암의 이수성(aneuploidy)의 정도는 DNA index에 의해 결정될 수 있는데 이것은 이배수성 G₁ peak에 대한 G₁ 암세포의 핵산함량 비율을 나타낸것이다

DNA index 1은 이배수성(2n) 핵산함량이며 1.5는 삼배수성(3n) 핵산함량을 나타내는 것이다²⁷⁾ 이러한 DNA index에 기준해서 대부분의 종양을 DNA index 1.5이하는 near diploid tumor, 1.5이상은 hyperdiploid tumor로 분류하기도 한다 비록 flow cytometry에 의한 핵산함량의 조사가 많은 암환자에 있어서 예후나 chemotherapy 혹은 radiotherapy에 대한 민감도(sensitivity)를 결정하는데 객관적인 자료를 제공할 수 있지만 아직도 완전한 것은 아니며 이것은 종양의 염색체적조사로 상호보완 되어야 할 것이다

자궁경부암에 대한 핵산 함량의 보고를 보면 Atkin 와 Kay²⁸⁾는 static cytometry를 이용하여 핵산함량이 이배수성 근처에 있는 집단의 예후가 좋지 않다고 보고하였으나 이것은 후에 사실이 아닌 것으로 밝혀졌으며 Jakobson은²⁹⁾ flow cytometry를 이용하여 171명의 자궁경부암 환자에서 low polidy 종양(DNA index < 1.5)이 high polidy 종양(DNA index > 1.5)보다 예후가 더욱더 나은 것으로 보고 하였으며 또한 Jakobsen 등³⁰⁾은 자궁경부상피내암(intraepithelial neoplasm)을 flow cytometry로 조사해서 이배수성 핵산함량을 밝혀내었으며 이것의 조사가 염색체조사와 29%에서 일치함을 보고하였다 또한 이들은 종양의 이수성은 invasive cancer로의 진행과 관계가 있었으며 이수성형태를 지닌 암세포의 부위를 invasive cancer의 전구체라고 설명하였다

본 조사에 의하면 자궁 경부암세포들은 near diploid 핵산함량을 가지고 있었으나 이것은 보고자들의 염색체조사의 결과가 표준수치 56의 hyperdiploid 양상으로 나타나는 것과 비교해 보았을때 일치하지는

않았다

참 고 문 헌

- 1 McKusik M New classification of genetic disease, Arizona symposium on cyto-molecular biology of solid tumour, 1989
- 2 Bishop JM The molecular genetics of cancer *Science* 1989, 235 305-311
- 3 Nowell PC, Hungerford DA A minute chromosome in human granulocytic leukemia *Science* 1960, 132 1497
- 4 Casperson TZ, Johansson C Differential banding of alkylating fluorochromes in human chromosome *Exp Cell Res* 1970; 60 315-319
- 5 Rowley JD A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining *Nature* 1973, 243 290-293
- 6 Atkin NB, Baker MC Chromosome 1 in 26 carcinomas of the cervix uteri *Cancer* 1979, 44 604-613
- 7 Atkin NB, Baker MC Chromosome 17p loss in carcinoma of the cervix uteri *Cancer Genet Cytogenet* 1989, 37 229-233
- 8 Verma RS, Dosik H, Lavpa KS Characterization of human heteroploid cell line J-111, Reverse banding patterns of marker chromosomes *J Hered* 1977, 68 87-292
- 9 Klew G, Klein E Evolution of tumors and the impact of molecular oncology *Nature* 1985, 315 190-195
- 10 Rowley JD Chromosome abnormalities in cancer *Cancer Genet Cytogenet* 1980, 2 175-198
- 11 Rechavi G, Givol D, Canaan E Activation of a cellular oncogene by DNA rearrangement Possible involvement of IS-like element *Nature* 1982, 300 607-611
- 12 Cairns J The origin of human cancers *Nature* 1981, 289 353-357
- 13 Mitelman F, Levan G Clustering of aberrations to specific chromosomes in human neoplasia 2 A survey of 287 neoplasms *Hereditas* 1976, 82 167-74
- 14 Sachs L Control of normal cell differentiation and phenotypic reversion of malignancy in myeloid leukemia *Nature* 1978, 274 535-539
- 15 George DL, Francke U Gene dose effect regional mapping of human nucleoside phosphorylation on chromosome 14 *Science* 1976, 194 851-952
- 16 Ohno S Genetic implication of karyological instability of malignant somatic cells *Physiol Rev* 1971, 51 496-526
- 17 Nowell PC The clonal evolution of tumor cell populations *Science* 1976, 194 23-28
- 18 Atkin NB Lack of reciprocal translocations in carcinomas *Cancer Genet Cytogenet* 1986, 21 275-278
- 19 Croce CM Chromosome translocations and human cancer *Cancer Res* 1986, 46 6019-6023
- 20 Pathak S, Wang DM, Scks PC Telomeric association another characteristic of cancer chromosome? *Cytogenet Cell Genet* 1988, 47 227-229
- 21 Barker, PE Double minutes in human tumor cells *Cancer Genet Cytogenet* 1982, 5 81-94
- 22 Cowell JK Double minutes and Homogenously Staining Regions Gens amplification in mammalian cells *Annu Rev Genet* 1982, 16 21-59
- 23 Yunis JJ The chromosomal basis of human neoplasias *Science* 1983, 21 227-236
- 24 Atkin NB, Brito-Babapulle V Chromosome 1 heterochromatin variants and cancer A reassessment *Cancer Genet Cytogenet* 1985, 18 325-331
- 25 Rabbits TH, Hamlyn PH, Baer R Altered nucleotide sequences of a translocated c-myc gene in Burkitt lymphoma *Nature* 1983, 306 760-765
- 26 Melamed MR, Mullaney PR, Mendelsohn ML *Flow Cytometry and Sorting* New York, John Wiley, 1979
- 27 Broglie B, Drewino B, Schumann J, et al Cellular DNA as a marker of neoplasia in man *J Med* 1980, 69 19-203
- 28 Atki ND, Kay R Prognostic significance of modal DNA value and other factors in malignant tumors based on 1456 cases *Br J Cancer* 1979, 40 210-221
- 29 Jakobsen A Prognostic impact of ploidy level in carcinoma of the cervix *Am J Clin Oncol* (in press)
- 30 Jakobsen A, Kristensen PB, Poulsen HK Flow cytometric classification of biopsy specimens from cervical intraepithelial neoplasia *Cytometry* 1983, 4 166-170