

# Expression of GLUT-1 and EGFR in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma

Ji-Eun Lee<sup>1</sup>, Young-Ho Jung<sup>1</sup>, Jin-Haeng Chung<sup>2,3</sup> and Soon-Hyun Ahn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, <sup>2</sup>Pathology, <sup>3</sup>Tumor Immunity Medical Research Center, Seoul National University College of Medicine, Bundang Hospital, Seongnam, Korea

## 두경부 편평 상피 세포암에서 Glucose Uptake Transporter-1과 Epidermal Growth Factor Receptor의 발현 양상

이지은<sup>1</sup> · 정영호<sup>1</sup> · 정진행<sup>2,3</sup> · 안순현<sup>1</sup>

서울대학교 의과대학 분당서울대학교병원 이비인후과학교실, <sup>1</sup> 병리과학교실, <sup>2</sup> 의학연구원 종양면역연구소<sup>3</sup>

Received April 10, 2009  
Revised August 13, 2009  
Accepted August 24, 2009

**Address for correspondence**  
Soon-Hyun Ahn, MD  
Department of Otorhinolaryngology-  
Head and Neck Surgery,  
Seoul National University  
College of Medicine,  
Bundang Hospital,  
166 Gumi-ro, Bundang-gu,  
Seongnam 463-707, Korea  
Tel +82-31-787-7403  
Fax +82-31-787-4057  
E-mail ahnsh30@snu.ac.kr

Jin-Haeng Chung, MD  
Department of Pathology,  
Seoul National University  
College of Medicine,  
Bundang Hospital,  
166 Gumi-ro, Bundang-gu,  
Seongnam 463-707, Korea  
Tel +82-31-787-7713  
Fax +82-31-787-4012  
E-mail chungjh@snu.ac.kr

**Background and Objectives** We investigated the expression of glucose uptake transporter-1 (GLUT-1) and epidermal growth factor receptor (EGFR) in the head and neck squamous cell cancer (HNSCC) and their influence on survival rate. We also aimed to demonstrate the relationships between the expressions of GLUT-1 and EGFR and the maximal standardized uptake values (mSUV) of fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET).

**Subjects and Method** Surgical specimens from 50 patients with HNSCC, who had undergone surgical intervention, were first processed for tissue array and then for immunochemistry for GLUT-1 and EGFR. Expressions of GLUT-1 and EGFR were analyzed according to the differentiation of tumor, T & N stage and invasiveness of the tumor etc. The relationship between PET-mSUV and the expressions of EGFR and GLUT-1 was evaluated as well as its possibility as a prognostic factor of SUV.

**Results** The expression of EGFR was significantly high in the lymph node of the positive group. Associated with the expression of GLUT-1, a tendency of increased index score (IS) values in the advanced T stages was observed but it was not statistically significant. The mSUV in FDG-PET showed statistically significant association with the maximal tumor size (pearson correlation 0.569,  $p=0.023$ ); however, no association with GLUT-1 and EGFR was observed. A universal strong expression of GLUT-1 could have made it difficult to figure out statistically significant correlations. Disease free survival was to be influenced by T stage, moderate and poor differentiation and GLUT-1 expression. Only the T stages had independent significance in the multivariate analysis using the Cox regression model.

**Conclusion** We found that the expression of GLUT-1 could not show statistically significant correlation with PET-mSUV. Since the expression of EGFR has significant correlation with lymph node metastasis, EGFR may have the possibility of being a target for anticancer molecular therapy.

Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2009;52:822-7

**Key Words** GLUT-1 · EGFR · SUV · Head and neck squamous cell carcinoma.

## 서 론

당(glucose)과 이것의 저장 형태인 글리코겐(glycogen)은 세포가 유산소 대사를 하는데 필요한 가장 중요한 에너지원이다. 악성 세포는 정상 세포에 비해 당의 섭취율 및 오

구량이 높는데, 이러한 특성은 당 수송 단백질(glucose transporter protein) 증가 및 당 분해 능력(glycolytic activity) 향상이라는 두 가지 기전으로 충족된다.<sup>1)</sup> 당의 세포 내 유입과정은 당 수송 단백질로 매개된 촉진적 확산으로 이루어지는 non-energy dependent 과정인데, 이러한

당 수송 물질로는 glucose uptake transporter(GLUT)이 있으며 이는 1, 2, 3, 4, 5 및 7형의 아형을 가진다고 알려져 있다.<sup>2,3)</sup>

GLUT에 대한 이전의 논문을 살펴보면 비소세포성 폐암, 대장암, 직장암, 위암, 유방암 등에서 GLUT-1 mRNA의 발현이 통계적으로 유의하게 증가됨이 보고된 바 있고, 이것은 임상 병기, 종양의 침략성, 전이 및 불량한 예후와 관련이 있다고 하였다. 이는 두경부 편평 세포암에서도 적용되는 특징으로 이전의 연구에서 GLUT-1이 림프절 전이 및 나쁜 예후와 관련되어 있음이 알려져 있다.<sup>4)</sup>

암 세포는 glucose 이외에도 fluorine-18 fluorodeoxyglucose(FDG)를 에너지원으로 사용할 수 있는데 이러한 특성을 바탕으로 하여 fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography(FDG-PET)이 종양의 진단, 병변의 범위, 예후, 치료 및 재발의 평가를 위한 새로운 영상 기법으로 사용되고 있다.<sup>4)</sup> 하지만 암 세포가 FDG를 사용하는 분자적 기전은 아직 정확히 알려지지 않았고, FDG uptake와 GLUT-1 발현의 연관성에 대해서도 아직 의견이 분분하여 이에 대해 많은 연구가 필요한 상황이다.

상피성장인자수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR)는 ErbB 계열의 경막성 단백질(transmembrane protein) 수용체로 내인성 타이로신 인산화 능력(thyrosine kinase activity)을 갖는데, 수용체에 리간드(ligand)가 결합하게 되면 암 세포 증식 및 침입, 혈관신생, 전이 등과 관련된 강력한 조절자 역할을 하는 경로를 활성화시킨다. 근래 항 종양 표적 치료가 항암 치료의 새로운 치료법으로 대두되면서 두경부 영역에서 EGFR inhibitor를 이용한 임상 시험들이 시행되고 있으며 일부 좋은 반응이 보고되어 이와 관련된 연구가 많이 진행되고 있는 실정이다.<sup>5,6)</sup> 하지만 아직까지 두경부 상피 세포암에서 이 두 인자의 과발현 및 예후 예측 인자로서의 가능성은 확립되어 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 두경부 상피 세포암에서 GLUT-1 및 EGFR의 과발현 여부를 파악하고 이것이 생존율에 미치는 영향을 알아 보고자 하였다.

더불어 GLUT-1 및 EGFR 발현과 PET의 maximal standardized uptake values(mSUV) 수치와의 연관성을 살펴보고 SUV의 두 인자의 발현 정도에 대한 예측 인자로서의 역할에 대해 생각해 보았다.

## 대상 및 방법

2003년 11월부터 2006년 7월까지 두경부 편평 상피 세포암(head and neck squamous cell cancer, HNSCC)으

로 진단받고 수술적 치료를 시행한 50명의 환자에서 수술 조직 표본을 얻은 후 대표적 종양 조직과 정상 조직이 포함된 표본을 선택하여 GLUT-1과 EGFR에 대한 면역조직화학염색을 시행하였다.

### 면역조직화학염색

선택된 파라핀 포매 조직을 4  $\mu$ m 두께로 박절하여 탈 파라핀과 함수과정을 거쳤다. 절편 조직은 조직 내에 있는 과산화효소를 제거하기 위하여 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에서 10분간 반응시킨 후 물로 세척하였다. 항원을 복구하기 위해 0.1 M 구연산 완충액(pH 6.0)에서 5분간 가열한 후 세척하고, 다시 Tris 완충액(pH 7.6)으로 세척한 후 비특이 반응을 제거하기 위하여 5% 염소혈청에 10분간 반응시켰다. 면역조직화학염색은 과산화효소가 결합된 Streptavidin-biotin-complex(ABC) 방법을 이용하여 시행하였다. 일차 항체는 단클론 항체인 EGFR(1 : 100, Zymed, San Francisco, CA, USA)과 GLUT-1(1 : 50, Neomarkers, Fremont, CA, USA)을 이용하여 각각 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 그 후 Biotin이 결합된 이차 항체 goat anti-mouse IgG(DAKO, Carpinteria, CA, USA)로 실온에서 20분간 반응시키고 Tris 완충액으로 다시 세척하였다. 과산화효소(peroxidase)가 결합된 streptavidin에 20분간 반응시킨 후 발색제로는 3,3'-diaminobenzidine을 이용하였다. 그 후 Mayer's hematoxyline으로 대조염색한 후 봉입하였다.

조직 표본에서 염색의 범위를 0~100%, 염색 강도를 1~4등급으로 나타낸 후 두 변수의 곱을 발현 지표(index score, IS)로 사용하였다. 모든 환자는 수술 전 검사로 전신 전이 여부를 보기 위해 FDG-PET을 시행하였고, FDG-PET에서 얻어진 최대 mSUV 수치를 종양 조직에서의 증가된 당 대사량의 지표로 삼아 mSUV와 GLUT-1과 EGFR의 IS간의 상관관계를 살펴 보았다. 그 외 종양의 T, N, M 병기, 분화도, 종양 경계의 성상, 재발 여부 등의 변수에 대해서도 IS 혹은 mSUV와의 연관성을 찾아보았다. 초기 연구에 포함된 50예에서 두경부 이외의 부위에 이차성 원발성 암이 있거나, 재발했던 환자, 진단시 높은 병기로 인해 원발 부위를 표기하기 어려운 경우, 추적 관찰 중 중도에 탈락한 환자 총 15명은 연구에서 제외하였다.

통계는 Statistical Package for Social Science(SPSS) 15.0을 이용하여 그룹간 평균 비교는 student t-test 혹은 analysis of variance(ANOVA)를, mSUV와 EGFR 및 GLUT-1의 연관성은 pearson correlation test를 이용하였고, Kaplan-Meier 방법을 이용하여 생존율을 계산한 후 Log Rank 방법으로 그룹간의 생존율 차이를 분석하

였다. Cox proportional hazard model로 단변량 분석시 통계적으로 유의했던 변수의 영향을 살펴 보았다.  $p$ 값은 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의성을 갖는 것으로 하였다.

## 결 과

전체 환자는 35명으로 남녀가 각각 32 : 3이었으며 평균 나이는 67세(40~80)였다. 원발 암의 위치는 구강 25예, 후두부위가 10예였다. 임상 병기는 2002 American Joint Committee on Cancer(AJCC) staging system에 따라 결정하였다.

### GLUT-1과 EGFR의 발현도

종양의 분화도, T와 N병기, 종양의 경계와 GLUT-1 및

EGFR 발현과의 연관성에 대해 Table 1에 나타내었다. GLUT-1의 발현과 관련되어 T3, 4병기에서( $312.6 \pm 30.6$ ) T1, 2병기( $368.5 \pm 28.8$ )보다 평균 IS 수치가 높은 것을 확인할 수 있었지만 통계적 유의성은 없었다( $p=0.073$ ). EGFR의 경우 림프절 전이가 있는 환자에서 평균 IS score가 림프절 전이가 없는 환자에서 보다 통계적으로 유의하게 높게 나타남이 관찰되었다( $167.0 \pm 33.4$  vs.  $236.7 \pm 60.3$ ,  $p=0.048$ ).

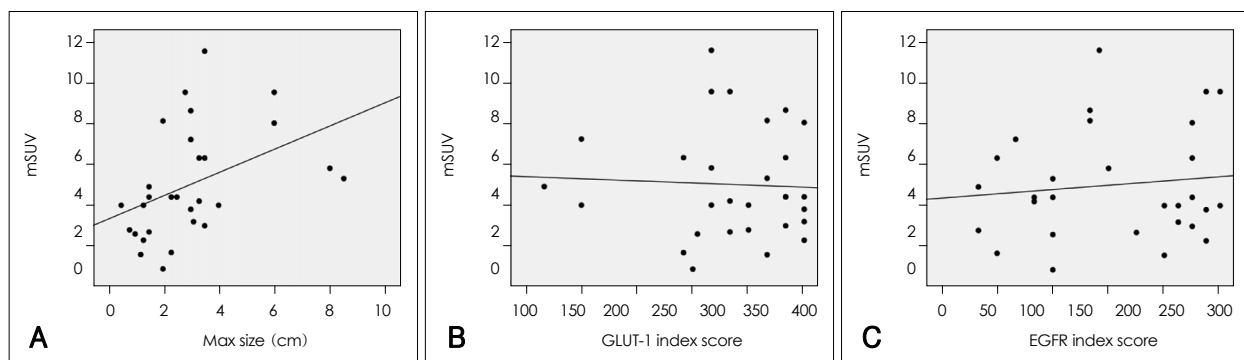
### GLUT-1 및 EGFR과 mSUV 수치와의 연관성

mSUV는 거의 모든 두경부 편평 세포암 환자에서 종양의 종류 및 위치와 관계 없이 전반적으로 강양성 소견을 나타내었다. 종양의 최대 크기와 mSUV는 양의 상관관계가 있었고(pearson correlation coefficient  $r=0.569$ ,  $p=0.023$ )

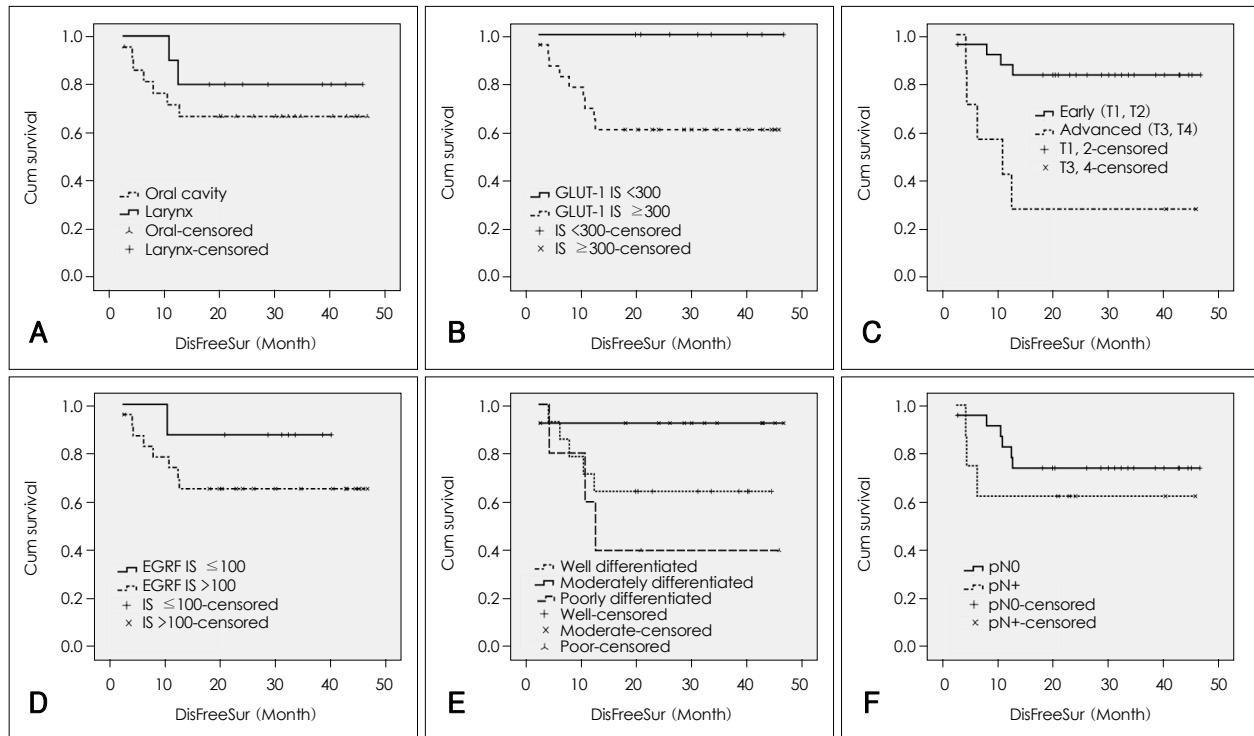
**Table 1.** GLUT-1 and EGFR expression

	n	GLUT-1		EGFR	
		Mean IS	p-value	Mean IS	p-value
Differentiation					
Well	14 (43.8%)	$315.7 \pm 47.8$	.802	$187.5 \pm 51.4$	.910
Moderate	13 (40.6%)	$335.0 \pm 24.8$		$176.9 \pm 45.4$	
Poorly	5 (15.6%)	$324.0 \pm 84.0$		$196.0 \pm 80.7$	
T stage					
T1, T2	25 (78.1%)	$312.6 \pm 30.6$	.073	$172.0 \pm 34.9$	.126
T3, T4	7 (21.9%)	$368.5 \pm 28.8$		$229.3 \pm 56.9$	
N stage					
N0	24 (75%)	$319.8 \pm 29.0$	.508	$167.0 \pm 33.4$	.048
N+	8 (25%)	$340.0 \pm 58.0$		$236.9 \pm 60.3$	
Tumor border					
Expanding	6 (18.8%)	$267.5 \pm 86.4$	.143	$143.3 \pm 66.6$	.148
Infiltrating	24 (75%)	$343.3 \pm 23.6$		$201.5 \pm 35.2$	

Evaluating the relationship between differentiation of tumor, T & N stage, invasiveness of the tumor and expression of GLUT-1 & EGFR, EGFR was significantly highly expressed in lymph node positive group. Expression of GLUT-1 had a increasing tendency in advanced T stage but it was not statistically significant. GLUT-1: glucose uptake transporter-1, EGFR: epidermal growth factor receptor, IS: Index score



**Fig. 1.** The correlation between mSUV and size, GLUT-1, and EGFR. There was a positive correlation between mSUV and maximum size of tumor ( $r=0.569$ ,  $p=.023$ )(A). There was no significant correlation between mSUV and GLUT-1 expression ( $r=-0.002$ ,  $p=.806$ )(B). There was no significant correlation between mSUV and EGFR expression ( $r=0.003$ ,  $p=.554$ )(C). GLUT-1: glucose uptake transporter-1, EGFR: epidermal growth factor receptor, mSUV: maximal standardized uptake value, IS: index score.



**Fig. 2.** Survival analysis according to the various factors. Disease free survival according to location of tumor ( $p=0.394$ )(A), GLUT-1 index score ( $p=0.05$ )(B), T stage ( $p=0.002$ )(C), EGFR index score ( $p=0.249$ )(D), differentiation (well-moderate, well-poor, moderate-poor,  $p=0.124, 0.446, 0.029$  respectively)(E) and nodal metastasis ( $p=0.408$ )(F) were illustrated. GLUT-1 index score, T stage, EGFR index score and differentiation of tumor had significant influence on survival rate in univariate analysis. GLUT-1: glucose uptake transporter-1, EGFR: epidermal growth factor receptor, mSUV: maximal standardized uptake value, IS: index score. DisFreeSur: disease free survival, Cum survival: cumulative survival.

**Table 2.** Multivariate analysis

Variables		p-value
Stage	T1 and T2	
	T3 and T4	0.006
GLUT-1 IS	<300	
	≥300	0.133
Differentiation	Well differentiated	
	Moderately differentiated	0.312
	Poorly differentiated	0.766

Among the parameters, only T stage had independent significance in multivariate analysis. GLUT-1: glucose uptake transporter-1, IS: Index score

이는 통계적으로 유의하였으나 GLUT-1 및 EGFR의 발현 정도와 mSUV 수치는 관련성이 없었다(Fig. 1).

### 생존 분석 및 무병 생존율

Disease free survival은 T1, 2병기가 T3, 4병기보다 통계적으로 높게 나타났다( $p=0.002$ ). 병리 조직에서 중등도 분화를 보이는 경우가 저분화도를 보이는 경우보다 유의하게 생존율이 높았다( $p=0.029$ ). 또한 GLUT-1 IS가 300 미만인 경우가 300 이상인 경우보다 생존율이 높게 나타났다( $p=0.05$ ). Cox regression model을 이용한 multivariate

analysis에서는 T병기가 독립적 중요성을 보였다(Fig. 2, Table 2).

## 고찰

두경부 상피 세포암에서 GLUT의 과발현은 흔히 관찰되는 소견이며 이는 림프절 전이, 불량한 예후 및 진행된 임상병기와 관련되어 있다고 알려져 있는데, 특히 GLUT-1, 3, 4는 glucose에 상대적으로 높은 친화도를 보이며 GLUT-1, 3은 림프절 전이가 있는 HNSCC 환자에서 높은 발현도를 보인다는 것이 보고된 바 있다.<sup>7)</sup> GLUT는 조직 특이적으로 발현되는 특징이 있어 GLUT-1은 주로 적혈구와 혈관 조직에, GLUT-2는 간, 췌장, 신장 및 장에 분포도를 보이고, GLUT-3은 뇌 조직과 염증 세포에서 주로 발견됨이 알려져 있다.<sup>8)</sup> 암 세포는 증가된 glucose transporter와 당 분해 능력을 통해 glucose의 이용을 효과적으로 증대시킬 수 있을 뿐 아니라 fluorine-18 fluorodeoxy-glucose (FDG)도 에너지원으로 이용할 수 있다. FDG는 glucose 유도체로 주로 glucose를 주 에너지원으로 사용하며 병태 생리학적인 환경에서 glucose의 이용이 증가하는 특징

을 지닌 세포 내에 집중되어 있다.<sup>3)</sup>

암 세포의 이러한 특성을 이용하여 FDG-PET이 암 환자의 초기 진단, 병변의 범위 및 예후를 가늠하고 치료 계획을 세우는 데 도움을 줄 수 있는 영상학적 도구로 도입되었다. Minn 등<sup>9)</sup>은 37명의 두경부 편평 세포 암 환자에서 FDG-PET의 높은 SUV가 불량한 예후와 관계 있다고 발표 하였고, Kunkel 등<sup>6)</sup>은 평균치 보다 높은 SUV를 가진 집단에서 평균치 보다 낮은 집단에 비해 생존율이 유의하게 감소하였음을 보고 하였다. 본 연구에서는 SUV가 종양의 최대 크기와 양의 상관관계를 가지나 통계적으로 유의성을 나타내지 못하였고 생존율에도 무관하였으며, 또한 GLUT-1이나 EGFR의 발현 정도와 상관 관계가 없었다 (Fig. 1). 이는 Mei Tian이 발표한 결과와 비슷한데, 각각 다른 부위의 암 종괴 자체의 종양 세포와 염증 세포의 구성 비율이 다르고 GLUT-1의 경우 염증조직 보다 종양 세포에서 발현이 더 많이 되기 때문에 상대적으로 염증 세포의 구성이 많게 되는 경우 SUV는 높지만 GLUT-1의 발현은 낮게 되고, 반대로 종양 세포가 차지하는 비율이 높은 경우 SUV와 GLUT-1이 모두 높게 나타나 결과적으로 GLUT-1 발현과 SUV는 연관성이 떨어진다고 하였다. 본 연구에 포함된 대부분 환자에서 전반적으로 SUV가 강양성 소견을 보여 환자군 간의 통계학적 차이를 나타내기에 한계가 있었고, 종양 세포와 염증 세포 구성비를 따로 계산하지 않아 그것의 영향을 정확히 평가하기는 어렵겠으나 종양의 크기가 큰 경우 SUV는 양의 상관 관계로 커지지만 종양 내부의 염증 세포가 차지하는 비율에 따라 GLUT-1의 발현 정도는 차이가 있고, 종양에 따라 표현되는 GLUT subtype이 여러 가지 존재할 수 있는 가능성 및 hexokinase enzyme system과 같은 당 섭취와 관련된 다른 경로가 종양마다 기여하는 부분이 다를 수 있다는 가능성으로 이번 연구의 결과를 설명할 수 있을 것이다.

또한 GLUT-1 IS가 300 미만인 경우 300 이상인 경우 보다 통계적으로 유의한 생존율의 증가를 나타냈지만 ( $p=0.05$ ) 다변량 분석시  $p$ 값이 0.133으로 독립적 중요성을 얻지는 못하였다. 환자 표본 수가 좀더 늘어나면 이 값은 달라질 수 있을 것이다. 그리고 GLUT-1이 림프절 전이가 있는 환자에서 발현이 증가된다는<sup>7)</sup> 연구보고와는 달리 이번 결과에서는 관련이 없는 것으로 나타났는데 (Table 1) 기존 연구에 포함된 38명의 HNSCC 환자군은 후두암 4예, 재발한 편도선암 1예, 상악동암 4예, 설암 12예, 연구개암 1예, cheilocarcinoma 3예, gingival cancer 4예, hypopharynx 2예, 하악 침샘암 1예 등 다양한 두경부 원발 부위로 구성되어 있는 것에 비해 현 연구는 구강 25예, 후

두부위 10예로 비교적 한정되어 있어 환자군의 원발 부위의 구성 차이 및 원발 부위별 림프절 전이 성향 및 비율이 다른 것이 이번 결과의 원인이 될 수 있을 것이다.

근래 암 치료에 있어서 분자 수준의 표적 치료가 많은 관심을 받고 있는데 그 중 두경부 영역에서 관심의 대상이 되고 있는 것은 EGFR이다. EGFR은 ErbB 계열의 한 종류로 tyrosine kinase activity를 지니며 세포 증식, 세포 고사의 억제, 혈관 생성, 침투, 전이와 같은 종양 생성, 진행 과정에 중요한 조절자로 막 수용체의  $P^{27}$ , Skp2와 연관되어 세포 진행 주기를 조절하는 역할을 담당하는데, 1999년 Etienne 등은 두경부 편평 세포암에서 EGFR의 과발현이 진행된 병기 및 나쁜 예후와 관련되어 있다고 발표한 바 있다.<sup>10,11)</sup> 2008년 Carracedo 등<sup>12)</sup>은 49명의 HNSCC 환자 중 약 49%에서 EGFR이 강하게 염색되는 것을 확인 후 특히 림프절 전이 환자에서 더 자주 이러한 현상이 나타남을 보고 하였고, Skp2의 과발현이 통계적으로 의미 있는 생존율 감소와 연관이 있다고 하였다. Erlotinib과 같은 항종양 약제의  $P^{27}$ 의 상향 조절을 통한 EGFR의 억제는 최근 비세포성 폐암에서 치료 효용성이 입증된 바 있으며, 이미 1980년대 두경부 영역에서도 EGFR을 표적으로 하여 tyrosine kinase inhibitor인 gefitinib으로 임상실험이 진행된 바 있는데, 약제에 상당히 반응이 있었던 것으로 보고되어 당시 새로운 치료법의 가능성을 제시하였다.<sup>13)</sup> 근래 많은 EGFR 차단 약제가 소개되고 있는데 세포 내에서 tyrosine kinase를 억제하는 erlotinib, gefitinib과 같은 작은 물질과 수용체에 직접 붙어 작용하는 cetuximab과 같은 항체로 나누어 볼 수 있고 그 중 대장 직장암 및 두경부암에 대해 특히 효과가 증명되었던 cetuximab이 현재 가장 널리 사용되는 약제이다.<sup>14-17)</sup> EGFR이 생존율과 유의한 상관관계를 나타내지는 못하였지만( $p=0.249$ ), 이전의 보고와 비슷하게 본 연구에서도 35명 환자 모두에서 EGFR의 발현이 증명되었고, 림프절 전이가 있는 환자에서 EGFR의 평균 IS가 림프절 전이가 없는 환자에서 보다 통계적으로 유의하게 높게 나타남이 관찰되었다( $167.0 \pm 33.4$  vs.  $236.7 \pm 60.3$ ,  $p=0.048$ ). 하지만 다변량 분석에서는 독립인자로서의 중요성을 얻는데 실패함에 따라 EGFR 표적 치료에 대한 실현 가능성을 높이기 위해서는 대단위 표본을 대상으로 한 연구가 더욱 요구된다고 하겠다.

결론적으로 본 연구에서 GLUT-1은 모든 편평 상피 세포암에서 강하게 발현이 되어 발현 정도의 차이가 미미하여 PET에서의 mSUV값의 변화를 보기는 어려웠으며, 환자의 병기와 관련하여 EGFR의 발현이 림프절 전이와 유의한 관련성을 보여 targeted therapy의 표적으로서의 가능성을

재확인할 수 있었다.

## Acknowledgments

This study was supported by the Korea Research Foundation Grant funded by the Korean Government (KRF-2008-E00042).

## REFERENCES

- 1) Oehr P, Ruhlmann J, Biersack HJ. FDG-PET in clinical oncology; review of the literature and report of one institution's experience. *J Investing Med* 1999;47(9):452-61.
- 2) Isselbacher KJ. Sugar and amino acid transport by cells in culture-differences between normal and malignant cells. *N Engl J Med* 1972; 286(17):929-33.
- 3) Reisser C, Eichhorn K, Herold-Mende C, Born AI, Bannasch P. Expression of facilitative glucose transport proteins during development of squamous cell carcinomas of the head and neck. *Int J Cancer* 1999; 80(2):194-8.
- 4) Tian M, Zhang H, Nakasone Y, Mogi K, Endo K. Expression of Glut-1 and Glut-3 in untreated oral squamous cell carcinoma compared with FDG accumulation in a PET study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2004;31(1):5-12.
- 5) Dietz A, Boehm A, Mozet C, Wichmann G, Giannis A. Current aspects of targeted therapy in head and neck tumors. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2008;265 Suppl 1:S3-12.
- 6) Kunkel M, Reichert TE, Benz P, Lehr HA, Jeong JH, Wieand S, et al. Overexpression of Glut-1 and increased glucose metabolism in tumors are associated with a poor prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma. *Cancer* 2003;97(4):1015-24.
- 7) Zhou S, Wang S, Wu Q, Fan J, Wang Q. Expression of glucose transporter-1 and -3 in the head and neck carcinoma-the correlation of the expression with the biological behaviors. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2008;70(3):189-94.
- 8) Mantych GJ, James DE, Chung HD, Devaskar SU. Cellular localization and characterization of Glut 3 glucose transporter isoform in human brain. *Endocrinology* 1992;131(3):1270-8.
- 9) Minn H, Lapela M, Klemi PJ, Grénman R, Leskinen S, Lindholm P, et al. Prediction of survival with fluorine-18-fluoro-deoxyglucose and PET in head and neck cancer. *J Nucl Med* 1997;38(12):1907-11.
- 10) Woodburn JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 1999;82(2-3):241-50.
- 11) Etienne MC, Pivot X, Formento JL, Bensadoun RJ, Formento P, Dasonville O, et al. A multifactorial approach including tumoral epidermal growth factor receptor, p53, thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase to predict treatment outcome in head and neck cancer patients receiving 5-fluorouracil. *Br J Cancer* 1999;79(11-12):1864-9.
- 12) Carracedo DG, Astudillo A, Rodrigo JP, Suarez C, Gonzalez MV. Skp2, p27kip1 and EGFR assessment in head and neck squamous cell carcinoma: Prognostic implications. *Oncol Rep* 2008;20(3):589-95.
- 13) Mendelsohn J, Baselga J. The EGF receptor family as targets for cancer therapy. *Oncogene* 2000;19(56):6550-65.
- 14) Cunningham D, Humblet Y, Siena S, Khayat D, Bleiberg H, Santoro A, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(4):337-45.
- 15) Herbst RS, Arquette M, Shin DM, Dicke K, Vokes EE, Azarnia N, et al. Phase II multicenter study of the epidermal growth factor receptor antibody cetuximab and cisplatin for recurrent and refractory squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 2005;23(24):5578-87.
- 16) Vermorken JB, Trigo J, Hitt R, Koralewski P, Diaz-Rubio E, Rolland F, et al. Open-label, uncontrolled, multicenter phase II study to evaluate the efficacy and toxicity of cetuximab as a single agent in patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck who failed to respond to platinum-based therapy. *J Clin Oncol* 2007;25(16):2171-7.
- 17) Bonner JA, Maihle NJ, Folven BR, Christianson TJ, Spain K. The interaction of epidermal growth factor and radiation in human head and neck squamous cell carcinoma cell lines with vastly different radiosensitivities. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994;29(2):243-7.