

Προγνωστική Σημασία της p53 Πρωτεΐνης στον Καρκίνο του Στομάχου

Ε. Νεονάκης,¹ Ι. Τερζής,¹ Ι. Σφηνιαδάκης,² Γ. Ζαμπάκος¹

Η έκφραση της p53 πρωτεΐνης μελετήθηκε ανοσοϊστοχημικά σε 26 περιπτώσεις αδενοκαρκινωμάτων του στομάχου (16 άνδρες και 11 γυναίκες), ηλικίας 41-85 ετών ($66,2 \pm 13$ SD έτη) που υποβλήθηκαν σε ολική ή υπολική γαστρεκτομή. Για τον εντοπισμό της p53 πρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκε το μονοκλωνικό αντίσωμα DO-7 της YLEM, εφαρμόζοντας την υπερευαίσθητη τεχνική βιοτίνης-στρεπταβιδίνης-υπεροξειδάσης, μετά από επώαση σε κλίβανο μικροκυμάτων μέσα σε κατάλληλο υλικό (antigen retrieval). Συσχετίστηκε η έκφραση της p53 πρωτεΐνης με διάφορες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους. Υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης διαπιστώθηκε σε 22/26 αρρώστους (84,6%), με ποσοστό ανοσοαντίδρασης των καρκινικών κυττάρων $36,6\% \pm 14,4$ SD (10-60%). Διαπιστώθηκε αντιστρόφως ανάλογη συσχέτιση του επί τοις εκατό ποσοστού του πληθυσμού των θετικών κυττάρων με το βαθμό διαφοροποίησης (grade) του όγκου στον εντερικό τύπο του καρκίνου ($P=0,001$). Αντίθετα, δεν διαπιστώθηκε καμία συσχέτιση της υπερέκφρασης της p53 πρωτεΐνης με την ηλικία, το φύλο, την επιβίωση των αρρώστων, το στάδιο της νόσου, την κατάσταση των λεμφαδένων, το βάθος διήθησης και τον ιστολογικό τύπο του καρκίνου. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης είναι ένα συχνό εύρημα στον καρκίνο του στομάχου και αποτελεί ίσως ένα πρώιμο φαινόμενο κατά τις διεργασίες της καρκινογένεσης στον εντερικό τύπο της νόσου.

ABSTRACT. Neonakis E, Terzis J, Sfiniadakis J, Zabakos G (Athens): Prognostic meaning of p53 protein in gastric cancer. *Iatriki Epitheorisis Enoplon Dynameon* (2001):35(1-2). The expression of p53 protein studied immunohistochemically in 26 patients with adenocarcinoma of the stomach (16 men-11 women), age 41-85 yrs (66.2 ± 13 SD yrs) who underwent to total or subtotal gastrectomy. For the localization of p53 protein used the monoclonic antibody DO-7 of YLEM, occluding the supersensitive technique biotin-streptavidine-peroxydase, after incubation in a microwave incubator, into a proper material (antigen retrieval). The expression of p53 protein correlated with many clinicopathologoanatomical parameters. Overexpression of p53 protein located in 22/26 patients (84.6%) with immunoreaction percentage of cancer cells $36.6\% \pm 14.4$ SD (10-60%). It was found conversely ratio relation of the percentage of positive cells with the grade of the tumor in the intestinal type of the cancer ($P=0.001$). On the contrary it was found no relation of p53 protein with age, sex, survival of the patients, stage, nodes, depth invasion and the histological type of the cancer. Conclusively, the expression of p53 protein is a frequent finding in gastric cancer and may be an earlier phenomenon during the fermentations of carcinogenesis in the intestinal type of the cancer.

Πρόσθετοι όροι ευρετηρίου: p53, καρκίνος στομάχου, πρόγνωση, σγκοπρωτεΐνες.

¹ Β' Χειρουργική Κλινική, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών

² Παθολογοανατομικό Εργαστήριο, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών

Η ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ του καρκίνου του στομάχου παραμένει «εν πολλοίς» άγνωστη μέχρι σήμερα. Φαίνεται όμως ότι η αδρανοποίηση του p53 γονιδίου ως συνέπεια της απώλειας του ενός αλληλόμορφου γονιδίου και εστιακών μεταλλάξεων στο εναπομείναν p53 αλληλόμορφο γονίδιο, παίζουν, ίσως, σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση στο στόμαχο του ανθρώπου.¹ Επακόλουθο των μοριακών αυτών μεταβολών είναι η παραγωγή μεταλλαγμένης p53 πρωτεΐνης, η οποία στερείται του ρυθμιστικού ρόλου της φυσιολογικής (wild-type) p53 πρωτεΐνης επί του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.² Όταν ελλείπει η επίδραση εξωτερικών βλαπτικών παραγόντων,³ η φυσιολογική p53 πρωτεΐνη, εξαιτίας του βραχέος χρόνου ημισείας ζωής της, συσσωρεύεται σε μικρές ποσότητες στο κύτταρο και η ανίχνευση της είναι αδύνατη.⁴ Αντίθετα, η μεταλλαγμένη p53 πρωτεΐνη, εξαιτίας της σύνδεσής της με άλλες ογκογενετικές πρωτεΐνες, είναι σταθερότερη και έχει μεγαλύτερο χρόνο ημισείας ζωής (5–20 ώρες) σε σχέση με τη φυσιολογική, με αποτέλεσμα να συγκεντρώνεται σε επαρκείς ποσότητες εντός του κυττάρου, ικανές να ανιχνευθούν ανοσοϊστοχημικά.⁵ Παρόλα αυτά, η υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης είναι μεν ενδεικτική, όχι όμως απόλυτα αποδεικτική, της ύπαρξης γενετικών μεταβολών του p53 γονιδίου.^{6,7} Το γεγονός αυτό σημαίνει ότι η ακριβής και τεκμηριωμένη μελέτη απαιτεί το συνδυασμό της ανάλυσης των μεταλλάξεων του p53 γονιδίου και της έκφρασης της αντίστοιχης πρωτεΐνης. Εντούτοις, στην καθημερινή κλινική πράξη, προτιμάται η ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της p53 πρωτεΐνης, εξαιτίας της σχετικά απλής τεχνικής της.

Τα τελευταία χρόνια η μελέτη της p53 πρωτεΐνης στον καρκίνο του στομάχου έχει δώσει ασαφή και αντικρουόμενα κατά το πλείστον αποτελέσματα, που αφορούν αφενός μεν στο “status” της p53 πρωτεΐνης στα καρκινικά κύτταρα και αφετέρου στο συσχέτισμό της με ποικίλα κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά.^{7–12}

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να καθορίσει εάν η έκφραση της p53 πρωτεΐνης στα καρκινικά κύτταρα του στομάχου μπορεί ν’ αποτελέσει έναν ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη της επιβίωσης των αρρώστων ή εάν συσχετίζεται με άλλες κλινικοπαθολογοανατομικές παραμέτρους, οι οποίες τεκμηριωμένα αποτελούν γνωστούς προγνωστικούς δεί-

κτες για τους αρρώστους, οι οποίοι χειρουργήθηκαν από καρκίνο του στομάχου.

Υλικό και μέθοδος

Είκοσι έξι περιπτώσεις πρωτοπαθών αδενοκαρκινωμάτων του στομάχου, 14 άνδρες και 12 γυναίκες, μέσης ηλικίας $66,2 \pm 13,5$ SD ετών (41–85 ετών), μελετήθηκαν ανοσοϊστοχημικά. Όλοι οι άρρωστοι είχαν υποβληθεί σε ολική ή υφολική γαστρεκτομή με ριζικό λεμφαδενικό καθαρισμό (D₂, D₃). Κανείς από τους αρρώστους δεν είχε λάβει προεγχειρητική χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία. Όλες οι κλινικές πληροφορίες ελήφθησαν από τα αρχεία των αρρώστων. Επίσης, έγινε λεπτομερής ιστολογικός επανέλεγχος των όγκων από ένα άτομο (ΙΣ), με ιδιαίτερη έμφαση στον ιστολογικό τύπο κατά Lauren, στη διαφοροποίηση του όγκου (nuclear grading) και στη σταδιοποίηση της νόσου (ταξινόμηση κατά UICC-TNM). Για τον ανοσοϊστοχημικό έλεγχο χρησιμοποιήθηκαν τομές πάχους 3 μικρών επί ιοντισμένων αντικειμενοφόρων πλακών Super Frost Plus, οι οποίες ελήφθησαν από κύβους παραφίνης (Paraplast Plus) του αρχείου μας.

Ως ανοσοϊστοχημική μέθοδος μελέτης χρησιμοποιήθηκε η ταχεία μέθοδος βιοτίνης-στρεπταβιδίνης-υπεροξειδάσης (της Lipshaw-Shandon, Kwik kit) μετά από επώαση σε κλίβανο μικροκυμάτων (800 W) μέσα σε κατάλληλο υλικό (Antigen Retrieval της YLEM) επί 10’, με σκοπό την ενίσχυση του αντιγονικού σήματος και την ανάληψη της μερικώς ή πλήρως τυχόν συγκαλυμμένης από τη μονιμοποίηση αντιγονικότητας.

Ως πρωτογενές αντίσωμα κατά της p53 πρωτεΐνης χρησιμοποιήθηκε το μονοκλωνικό αντίσωμα DO-7 της YLEM. Στη συνέχεια εφαρμόστηκε ένα βιοτινυλιωμένο δευτερογενές αντίσωμα ακολουθούμενο από το σεσημασμένο σύμπλοκο στρεπταβιδίνης-υπεροξειδάσης. Το αντιγονικό σήμα έγινε ορατό με την εφαρμογή 3,3 διαμινοβενζιδίνης για 10’. Η αντίχρωση έγινε με αιματοξυλίνη και ακολούθησε αφυδάτωση σε ανιούσα αλκοολών.

Ως εξωτερικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν τομές αδενοκαρκινωμάτων του παχέος εντέρου, ήδη γνωστού για την υπερέκφρασή του σε p53 πρωτεΐνη με το χρησιμοποιηθέν αντίσωμα. Ως αρνητικοί μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν τομές αλλοιώσεων του στομάχου, στις οποίες αντί του πρωτογενούς αντισώματος χρησιμοποιήθηκε TBS.

Για την έκφραση των αποτελεσμάτων του ανοσοϊστοχημικού ελέγχου εφαρμόστηκε η ημιποσοτική μέθοδος, με

την οποία αξιολογήθηκαν ένα προς ένα τα μελετηθέντα περιστατικά. Σε κάθε περίπτωση μελετήθηκαν πέντε αντιπροσωπευτικά οπτικά πεδία υπό τελική μεγέθυνση 400 (x400). Χρώση μέχρι 5% των καρκινικών κυττάρων χαρακτηρίστηκε αρνητική χρώση, χρώση 6–25% ελάχιστη, 26–50% ήπια, 51–75% μέτρια, 76–100% των κυττάρων έντονη. Δεν ελήφθη υπόψη η ένταση της ανοσοχρώσης, επειδή επηρεάζεται από πολλούς εξωγενείς παράγοντες και δεν έχει βρεθεί να αποτελεί αξιόπιστο δείκτη θετικότητας της p53 πρωτεΐνης.

Αποτελέσματα

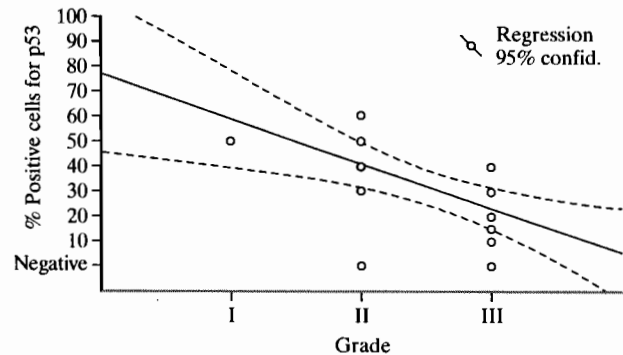
Διαπιστώθηκαν 14 περιπτώσεις εντερικού τύπου και 12 περιπτώσεις διάχυτου τύπου αδενοκαρκινωμάτων του στομάχου. Σε μία περίπτωση ο όγκος ήταν υψηλής διαφοροποίησης (grade I), σε 9 μέσης διαφοροποίησης (grade II) και σε 16 περιπτώσεις χαμηλής διαφοροποίησης (grade III). Σε 11 αρρώστους διαπιστώθηκαν μεταστάσεις στους λεμφαδένες, ενώ σε 15 περιπτώσεις οι λεμφαδένες ήταν ελεύθεροι μεταστατικής νόσου. Κατά τη σταδιοποίηση της νόσου διαπιστώθηκαν 7 περιπτώσεις αρρώστων σταδίου I, 8 σταδίου II, 2 σταδίου III και 9 σταδίου IV.

Υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης διαπιστώθηκε σε 22 από τους 26 αρρώστους (84,6%). Η επί τοις εκατό αναλογία των θετικά κεχρωσμένων κυττάρων κυμάνθηκε από 10–60% (μέσος όρος θετικότητας 36,6% ± 14,4 SD).

Η ανάλυση της έκφρασης της p53 πρωτεΐνης και η προσπάθεια συσχετισμού της με ποικίλες κλινικοπαθολογικοανατομικές παραμέτρους (φύλο, ηλικία, επιβίωση αρρώστων, στάδιο της νόσου, ιστολογικό τύπο κατά Lauren, βάθος διήθησης του όγκου, διήθηση λεμφαδένων) δεν αποκάλυψε καμία σημαντική διαφορά. Επίσης, δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση της συχνότητας υπερέκφρασης της p53 πρωτεΐνης και του βαθμού διαφοροποίησης του όγκου. Αντίθετα, διαπιστώθηκε μια αντιστρόφως ανάλογη σημαντική διαφορά ($P=0,004$) μεταξύ του ποσοστού των ανιχνευομένων θετικών κυττάρων σε p53 πρωτεΐνη και της διαφοροποίησής τους (σχήμα 1). Η σχέση αυτή ήταν ακόμη μεγαλύτερη ($P=0,001$) στον εντερικό τύπο του καρκίνου του στομάχου (σχήμα 2), ενώ δεν διαπιστώθηκε καμία συσχέτιση με το διάχυτο τύπο του καρκίνου.

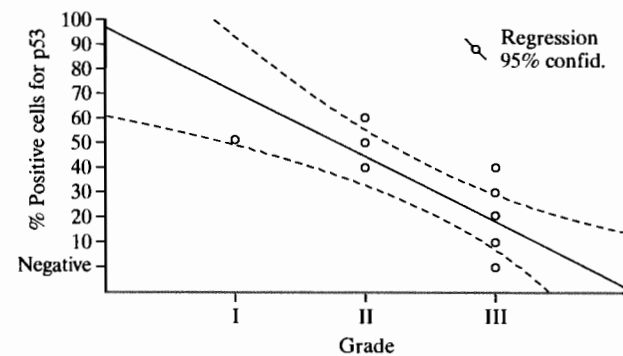
Συζήτηση

Η συχνότητα ανίχνευσης της p53 πρωτεΐνης στη μελέτη μας ανήλθε στο 84,6%, ποσοστό κατά πολύ υψηλότε-



Σχήμα 1. Συσχετισμός της διαφοροποίησης των καρκινικών κυττάρων με τον πληθυσμό των θετικώς ανιχνευομένων κυττάρων σε p53 πρωτεΐνη στον καρκίνο του στομάχου.

ρο από το αντίστοιχο άλλων ερευνητών.^{8,9,11,13} Τα υψηλά αυτά ποσοστά θα μπορούσαν, ίσως, να αποδοθούν στην υπερενίσχυση του αντιγονικού σήματος, η οποία επιτυγχάνεται μετά από ελώση σε *antigen retrieval*, σε κλίβανο μικροκυμάτων, υλικό το οποίο δεν χρησιμοποιήθηκε σε καμία από τις παραπάνω μελέτες. Χρησιμοποιώντας προσφάτως την ίδια τεχνική σε καλώς διαφοροποιημένα θηλώδη καρκινώματα του θυρεοειδούς διαπιστώσαμε εξίσου υψηλότερα ποσοστά ανίχνευσης της p53 πρωτεΐνης¹⁴ σε σύγκριση με εκείνα που έχουν προκύψει από άλλες παρόμοιες μελέτες.^{15,16} Όσον αφορά στην προγνωστική σημασία της έκφρασης της p53 πρωτεΐνης στον καρκίνο του στομάχου δεν υπάρχει ομοφωνία απόψεων. Ορισμένοι ερευνητές^{8,9,13} θεωρούν ότι η υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης αποτελεί, γενικώς, ανεξάρτητο δυσμενή προγνωστικό δείκτη, ενώ άλλοι¹¹ συσχετίζουν την ανίχνευση της



Σχήμα 2. Συσχετισμός της διαφοροποίησης των καρκινικών κυττάρων με τον πληθυσμό των θετικών ανιχνευομένων κυττάρων σε p53 πρωτεΐνη στον εντερικό τύπο του καρκίνου του στομάχου.

p53 πρωτεΐνης με πτωχή πρόγνωση μόνον στο διάχυτο και όχι στον εντερικό τύπο της νόσου. Άλλοι^{12,17-20} πάλι, δεν διαπίστωσαν καμία σημαντική σχέση έκφρασης της p53 πρωτεΐνης με την επιβίωση των αρρώστων. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας έρχονται σε συμφωνία με τα ευρήματα των τελευταίων αυτών μελετών.

Διχογνωμίες, επίσης, έχουν προκύψει κατά το συσχετισμό της έκφρασης της p53 πρωτεΐνης με διάφορα κλινικοπαθολογοανατομικά χαρακτηριστικά.^{7-9,11,12} Οι διαφορές αυτές στα ευρήματα των διαφόρων μελετών που αφορούν τόσο στους παραπάνω συσχετισμούς της p53 πρωτεΐνης, όσο και στη συχνότητα ανίχνευσης θετικών περιπτώσεων, μπορούν να αποδοθούν σε ποικίλες αιτίες. Η επιλογή των προς μελέτη περιπτώσεων,^{7,21} η χρησιμοποιούμενη τεχνική^{7,9,20} και οι διαφορετικοί τύποι αντισωμάτων^{7,9,13,20,21} αποτελούν τους κυριότερους ίσως παράγοντες, οι οποίοι επηρεάζουν τα αποτελέσματα. Στην παρούσα μελέτη δεν αναγνωρίστηκε η ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς, τόσο ως προς τη συχνότητα ανίχνευσης θετικών περιπτώσεων σε p53 πρωτεΐνη, όσο και ως προς τον πληθυσμό των ανιχνευομένων θετικών καρκινικών κυττάρων, με την ηλικία, το φύλο, τον ιστολογικό τύπο κατά Lauren και το στάδιο της νόσου. Επίσης, δεν ανιχνεύθηκε σημαντική συσχέτιση ως προς τη συχνότητα υπερέκφρασης της p53 πρωτεΐνης και του βαθμού διαφοροποίησης των καρκινικών κυττάρων. Αντίθετα, όμως, διαπιστώθηκε μία σημαντική ($P=0,004$) αντιστρόφως ανάλογη σχέση, του επί τοις εκατό ποσοστού των ανευρεθέντων θετικών κυττάρων με τη διαφοροποίηση του όγκου (σχήμα 1). Όσο, δηλαδή, πλέον διαφοροποιημένα ήταν τα καρκινικά κύτταρα, σε τόσο μεγαλύτερο πληθυσμό κυττάρων ανιχνεύθηκε η p53 πρωτεΐνη. Ο συσχετι-

σμός αυτός ήταν ακόμη ισχυρότερος για τον εντερικό τύπο της νόσου ($P=0,001$), ενώ αντίθετα δεν διαπιστώθηκε καμία συσχέτιση με το διάχυτο τύπο του καρκίνου. Το αποτέλεσμα αυτό, σε συνδυασμό με την παραδοχή ότι ο εντερικός τύπος του καρκίνου του στομάχου, ο οποίος αποτελεί και τον πλέον συχνό τύπο της νόσου, μπορεί να συνοδεύεται ή να προέρχεται από μία χρόνια ατροφική γαστρίτιδα, εντερική μεταπλασία ή μια έντονη δυσπλασία του γαστρικού βλεννογόνου,^{11,22} είναι ίσως ενδεικτικό του ότι η υπερέκφραση της p53 πρωτεΐνης, ως επακόλουθο πιθανών μεταλλάξεων του p53 γονιδίου, συμβαίνει σ' ένα πρώιμο στάδιο της καρκινωματώδους εξαλλαγής του κυττάρου. Στην υπόθεση αυτή συνεπικουρούν και τα ευρήματα άλλων ερευνητών, οι οποίοι διαπίστωσαν την παρουσία μεταλλάξεων του p53 γονιδίου σε αλλοιώσεις εντερικής μεταπλασίας,²² σε δυσπλαστικά κύτταρα στομάχου²³ σε πρώιμους καρκίνους του στομάχου^{12,19,24,25} και σε πρώιμα στάδια εντερικού τύπου καρκίνου του στομάχου.¹¹ Αντίθετα, άλλοι ερευνητές^{9,26,27} πιστεύουν ότι οι μεταλλάξεις του p53 γονιδίου αποτελούν ένα όψιμο φαινόμενο κατά τις διεργασίες της καρκινογένεσης. Εντούτοις κανείς από αυτούς δεν βρήκε την ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ των μεταλλάξεων του p53 γονιδίου ή της οποιασδήποτε μορφής υπερέκφρασης της p53 πρωτεΐνης με το βαθμό διαφοροποίησης του κυττάρου.

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι στο μεγαλύτερο ποσοστό των καρκίνων του στομάχου υπερεκφράζεται η p53 ογκοπρωτεΐνη και ως εκ τούτου ο ρόλος της στην ογκογένεση στο στόμαχο του ανθρώπου είναι ίσως σημαντικός. Η υπερέκφραση αυτή αποτελεί πιθανόν ένα πρώιμο φαινόμενο κατά τις διεργασίες της καρκινογένεσης στον εντερικό τύπο της νόσου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1 Matozaki T, Sakamoto Ch, Suzuki T, Matsuala K, Uchida T, Nakayo O, Wada K et al. p53 gene mutations in human gastric cancer: wild-type p53 but not mutant p53 suppresses growth of human gastric cancer cells. *Cancer Research* 1992, 52:4335-4341
- 2 Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Natur London* 1991, 351:453-456
- 3 Kastan MB, Onyekwere O, Sindransky D, Vogelstein B, Graig RW. Participation of p53 protein in the cellular response to DNA damage. *Cancer Research* 1991, 51:6304-6311
- 4 Reihnsaus E, Kohler M, Kraiss E, Oren M, Montenarh M. Regulation of the level of the oncoprotein p53 in non-transformed and transformed cells. *Oncogene* 1990, 5:137-145
- 5 Finlay CA, Hinds PW, Tan TH, Aliyahn D, Oren M, Levin J. Activating mutations for transformation by p53 produce a gene product that forms an hsc 70-p53 complex with an altered half-life. *Moll Cel Biol* 1988, 8:531, 539
- 6 Wynford-Thomas D. p53 in tumor pathology: can we trust immunocytochemistry? *J Pathol* 1992, 166:329-330
- 7 Lim BHG, Soong R, Grien F, Robbins PD, House AK, Iacpetta BG. p53 accumulation and mutation are prognostic indicators of poor survival in human gastric carcinoma. *Int J Cancer (Pred Oncol)* 1996, 69:200-204
- 8 Starzynska T, Bromley M, Ghosh A, Stery PL. Prognostic significance of p53 over-expression in gastric and colorectal carcinoma. *Br J Cancer* 1992, 66:558-562
- 9 Joypaul BV, Hopwood D, Newman EL, Qureshi S, Grand A, Ogston SA, Lane DP, Cuschieri A. The prognostic significance of the accumulation of p53 tumor-suppressor gene protein in gastric adenocarcinoma. *Br J Cancer* 1994, 69:943-946

- 10 Tahara E. Molecular biology of gastric cancer. *World J Surg* 1995, 19:484-490
- 11 Lee WJ, Sgun CT, Hong RL, Wu MS, Chang KJ, Chen KM. Overexpression of p53 predicts shorter survival in diffuse type gastric cancer. *Br J Surg* 1998, 85:1138-1142
- 12 Hurlimann J, Saraga EP. Expression of p53 protein in gastric carcinomas: association with histologic type and prognosis. *Am J Surg Pathol* 1994, 18:1247-1253
- 13 Martin HM, Filipet MI, Morris RW, Lane DP, Silvestre F. p53 expression and prognostic in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1992, 50:859-862
- 14 Neonakis E, Politi A, Metaxotos N, Noussis G, Sphiniadakis J, Dimakos P, Stathopoulos E. Expression of p53 protein and epidermal growth factor receptors (EGFRs) in human thyroid. 37th World Congress of Surgery, International Surgical Week ISW97, Acapulco, Mexico, 1997:246
- 15 Dobashi Y, Sakomoto A, Sugimura H, Meknyei M, Mori M, Oyama J, Machinami R. Overexpression of p53 as a possible prognostic factor in human thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1993, 17:375
- 16 Nakao K, Nakahara M, Nishida T, Yumiba T, Hamaji M, Miyata M, Tsujimoto M. Suppressor gene (p53) and DNA analysis in relation to patient's survival in differentiated thyroid cancer. International Surgical Week ISW95, Lisbon, Portugal, 1995 (Abstract:198)
- 17 Martin HM, Filipe MI, Morris RW, Lane DP, Silvestre F. p53 expression and prognosis in gastric carcinoma. *Int J Cancer* 1992, 50:859-862
- 18 Kakeji Y, Korenaga D, Tsujitani S, Baba H, Anai H, Maehara Y, Sugimachi K. Gastric cancer with p53 over-expression has high potential for metastasizing to lymph nodes. *Br J Cancer* 1993, 67:589-593
- 19 Uchino S, Noguchi M, Ochiai A, Saito T, Kobayashi M, Hirohashi S. p53 mutation in gastric cancer: a genetic model for carcinogenesis is common to gastric and colorectal cancer. *Int J Cancer* 1993, 54:759-764
- 20 Gabbert HE, Muller W, Schneiders A, Meiers S, Hommel G. The relationship of p53 expression to the prognosis of 418 patients with gastric carcinoma. *Cancer* 1995, 76:720-726
- 21 Ranzani GN, Luinetti O, Padovan LS, Calistri D, Renault B, Burrel M, Amadori D et al. p53 gene mutation and protein nuclear accumulation are early events in intestinal type cancer but late events in diffuse type. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent* 1995, 4:223-231
- 22 Gomyo Y, Osaki M, Kaibara N, Ito H. Numerical aberration and point mutation of p53 metaplasia and well-differentiated adenocarcinoma: analysis by fluorescence in situ hybridization (FISH) and PCR-SSCP. *Int J Cancer* 1996, 66:594-599
- 23 Corea P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process. First American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention. *Cancer Res* 1992, 52: 6735-6740
- 24 Yokozaki H, Kuniyasu H, Kitadai Y, Nishimura K, Todo H, Ayhan A, Yasui W et al. p53 point mutations in primary human gastric carcinomas. *J Cancer Res Clin Oncol* 1992, 119:67-70
- 25 Tohdo H, Yokozaki H, Haruma K, Kajiyama G, Tahara E. p53 gene mutations in gastric adenomas. *Virchows Arch (B)* 1992, 63:191-195
- 26 Tamura G, Kihana T, Nomura K, Terada M, Sugimura T, Hirohashi S. Detection of frequent p53 gene mutations in primary gastric cancer by cell sorting and polymerase chain reaction single-strand conformation polymorphism analysis. *Cancer Research* 1991, 51:3056-3058
- 27 Joypaul BV, Newman D, Hopwood D, Grant A, Qureshi S, Lane DP, Cushieri A. Expression of p53 protein in normal, dysplastic and malignant gastric mucosa: an immunohistochemical study. *J Pathol* 1993, 170:279-283

