

대장직장암에서의 P-Glycoprotein과 nm23-H1 Protein의 발현

충남대학교 의과대학 외과학교실

윤 성 진 · 윤 완 희*

= Abstract =

Expression of P-Glycoprotein and nm23-H1 Protein in Colorectal Carcinoma

Sung-Jin Yoon, M.D. and Wan-Hee Yoon, M.D.

Department of Surgery, Chungnam National University College of Medicine

Alterations in cell surface glycoproteins are common during carcinogenesis and may play a key role in determining the metastatic behavior of tumor cells, therefore P-glycoprotein expression may also influence the biological behavior of colon carcinoma cells.

Reduced expression of nm23 gene is implicated in high metastatic potential in a variety of malignancies, but the role is not clear in colorectal cancer than in breast cancer.

In an attempt to determine the clinical significance of P-glycoprotein and nm23-H1 protein, we evaluated sixty colorectal carcinoma specimens immunohistochemically. Monoclonal antibody NCL-JSBI and NCL-nm23 were used for detection of P-glycoprotein and nm-23 H1 protein, respectively. P-glycoprotein was found concentrated on the apical or luminal surface, whereas nm-23 H1 protein was stained throughout the cytoplasmic compartment.

P-glycoprotein was detected in 96.7% of colorectal cancers and significantly intense immunostaining was observed in stage B1 angioinvasive tumors compared to B1 nonangioinvasive, B2 angioinvasive, C and D tumors($P < 0.01$).

There was no significant correlation between P-glycoprotein expression and tumor histology, lymph node involvement or distant metastasis.

Increased nm23-H1 protein expression was observed in all sixty cases but no correlation with invasive or metastatic potential could be demonstrated.

Our findings suggest that P-glycoprotein expression in colon cancer cells may potentiated angioinvasion at early stage and expression of nm23-H1 protein may lack prognostic value in colorectal carcinoma.

Key Words: Colon cancer, P-glycoprotein, nm23-H1 protein, Immunohistochemical stain

*본 논문은 1994년도 충남대학교병원 임상연구비의 보조를 받은 것임.

**본 논문의 요지는 1994년 제 27차 대한대장항문병학회에서 구연하였음.

서 론

환경 및 식생활의 서구화로 우리나라에서도 대장직장암의 발생빈도가 높아지고 있으며, 대부분 암환자는 수술 및 보조요법의 향상에도 불구하고 암의 재발 혹은 전이로 인해 사망하고 있다. 암환자는 조기에 발견하는 경우 80% 이상의 생존율을 기대할 수 있지만, 전이가 발생하는 경우는 장기 생존을 기대하기 어렵다. 대장직장암의 예후는 다른 암에서와 마찬가지로 원격전이의 유무에 달려있다고 볼 수 있으나, 아직까지도 암의 전이능 즉 암의 진행정도나 침윤성 및 전이 정도등의 생물학적 특성을 정확히 반영할 수 있는 임상적 지표는 미흡한 실정이다. P-glycoprotein은 암의 화학요법시 항암제에 다약물 내성을 일으키는 MDR 유전자의 산물로 알려졌으나^{1,4,6,7,13,16-18}, 최근 암세포 표면의 당단백 혹은 당성분의 변화가 암세포의 형성과정이나 전이능에 중요한 역할을 한다고 알려진 것처럼 P-glycoprotein역시 세포표면에서 암세포의 생물학적 형태에 영향을 미칠 수 있을 것으로 추측되고 있다^{1,4,13,16-18}.

한편 nm23 유전자는 인체유방암을 포함한 여러 암종에서 nm23 유전자의 발현이 감소되었을때 전이가 증가되었다는 사실때문에 전이억제유전자라고도 알려져 있으나 아직 대장직장암에서 전이능과의 관계나 nm23유전자의 역할에 대해서는 명확히 밝혀져 있지 않은 상태이다^{3,9}. 이에 본 연구에서는 대장직장암의 국소침윤과 원격전이에 P-glycoprotein이나 nm23-H1 단백질의 발현이 어떠한 영향을 미치며, 향후 예후인자로 사용할 수 있는지를 알아보기 위하여 대장직장암으로 수술받고 조직학적으로 확진된 60예의 수술 조직 표본을 대상으로 면역조직화학적 방법을 이용하여 검색하였다.

대상 및 방법

1) 연구대상

1989년 3월부터 1994년 2월까지 5년 동안 충남대학교병원 외과학 교실에서 대장직장암으로 절제술을 시행받은 환자들의 수술조직표본에서 조직학적으로 장근층이상을 침범하고 파라핀 블록의 보존상태가 양호

Table 1. Classification of stage according to the Dukes' Classification and angioinvasion

Stage modified	No. of patient(%)
B1 (-)	9
(+)	6
B2 (-)	8
(+)	7
C (-)	5
(+)	10
D	15
Total	60

(-) : absence of angioinvasion

(+) : presence of angioinvasion

한 표본을 대상으로 modified Dukes' 명기에 따라 각각을 B1, B2, C 및 D로 구분하고 각 15예씩 60예를 선정하였으며, 또한 B1, B2 및 C는 hematoxylin-eosin염색을 한 조직 슬라이드를 광학현미경으로 종양과 인접해 있는 점막 하층을 관찰했을때 강내에 적혈구가 존재하고, 벽내에 평활근층의 분포가 풍부한 혈관내에 종양세포가 발견되거나, 종양세포에 의한 정맥침윤 소견이 보일때 혈관침윤으로 판정하여 B₁⁻, B₁⁺, B₂⁻, B₂⁺, C⁻ 및 C⁺로 세분하였다(Fig. 1. A). 수술전 항암요법이나 방사선 치료를 받았던 경우는 연구대상에서 제외하였다. 60예중 남자 29예, 여자가 31예였으며 연령분포는 31세에서 79세로 평균연령은 58.2세였다(Table 1).

2) 면역조직학적 염색방법

파라핀 포매된 각 병리조직을 5µm 두께로 박절한 다음 ABC 방법을 이용하여 면역조직화학적 염색을 시행하였다. P-glycoprotein 및 nm23-H1의 일차항체로는 mouse의 단클론항체(monoclonal antibody, 이하 MAAb)인 NCL-JSB-1(subclass IgG1, Novocastra)과 NCL-nm23(subclass IgG2a, Novocastra)을 사용하였으며, 1%우혈청 알부민(bovine serum albumin, BSA)이 들어있는 phosphate buffered saline(PBS)을 첨가하여 각각 1:100 및 1:200으로 희석하여 염색에 이용하였다. 두가지 모두 대조군으로 일차항체 대신 mouse의 혈청을, 이차항체 대신 PBS를 사용하였다. 염색 결과의 판정

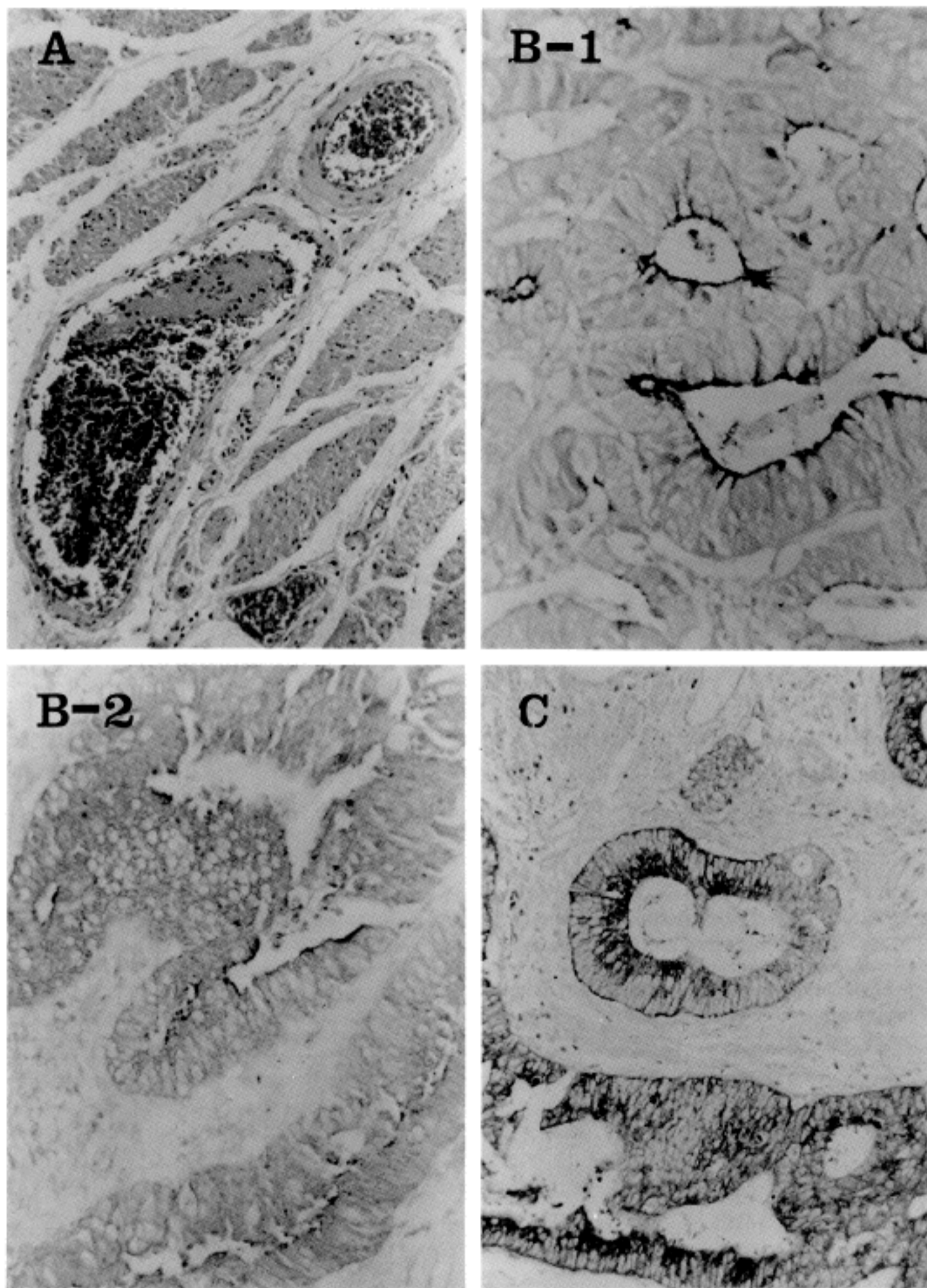


Fig. 1. P-glycoprotein and nm23-H1 protein expressed in colorectal carcinoma shown by immunohistochemical staining. A. There was noted the cancer cell thrombi inside the lumen of the vein. B-1. In the B1 nonangioinvasive tumor, P-glycoprotein was expressed on the apical surface of columnar epithelium. B-2. In the B1 angioinvasive tumor, P-glycoprotein was expressed on the apical surface and diffuse cytoplasmic pattern of columnar epithelium. C. nm23-H1 protein was strongly expressed diffuse cytoplasmic in almost all the cancer cells.

은 광학 현미경으로 관찰하여 염색정도의 범위를 %로 표시하고 다시 이를 점수화하여 P-glycoprotein의 경우 염색이 안됨: Grade 0, 1~5%: Grade 1, 6~25%: Grade 2, 26~100%: Grade 3로 하였으며, nm23-H1 단백질은 0~25%: Grade 0, 26~50%: Grade 1, 51~75%: Grade 2, 76~100%: Grade 3로 분류하였고, X²-test, Student's t-test 등을 이용하여 유의성을 검증하였다.

결 과

1) P-glycoprotein

대장직장암중 P-glycoprotein이 발현된 예는 전체 60예중 58예로 96.7%에서 발현되었으며 발현되지 않는 경우는 2예로 3.3%였으며, P-glycoprotein은 종양조직중 주로 luminal surface의 암세포 침부를 따라 염색되었고 일부는 세포질에 염색되는 양상이었다 (Fig. 1. B-1, 2)

대장직장암의 임파절전이의 유무, 암세포의 분화정도, 원격장기로의 전이여부, 종양이 병기 및 혈관 침윤 여부에 따른 P-glycoprotein 발현의 차이를 분석한 결과 P-glycoprotein은 임파절 전이가 없는 군에서 100%의 발현을 보였으며, 임파절 전이가 있는 군에서

는 93.3%의 발현율을 보였고, Grade 1이상 염색된 경우는 임파절 전이가 없는 군의 33%, 임파절 전이가 있는 군의 31%로 임파절 전이 유무에 따른 유의한 차이는 발견할 수 없었다.

암세포의 분화정도에 따른 P-glycoprotein 발현의 차이를 알아보기 위해 중등도 또는 고분화세포와 미분화세포, 점액성 세포를 각각 분화세포와 미분화세포로 병리학적으로 분류하여 비교한 결과 암세포의 분화정도에 따른 발현율의 차이는 없었으며, 또한 원격장기의 전이 여부에 따른 P-glycoprotein이 발현의 차이도 발견할 수 없었다.

반면 종양의 병기 및 혈관 침윤과 P-glycoprotein 발현과의 상관 관계를 살펴본 결과 혈관 침윤이 있는 병기 B₁의 6예 전예(100%)에서 Grade 2 이상의 발현을 보였으며, 한편 혈관 침윤이 없는 B₁은 총 9예중 4예(44.4%)에서 Grade 2이상의 발현 양상을 보였고, Grade 3이상이 발현되는 예를 각각 비교할때 혈관 침윤이 있는 B₁은 83.3%, 혈관 침윤이 없는 B₁은 22.2%로 매우 의미있는 발현율의 차이를 발견할 수 있었다(P<0.01, Table 2, Fig. 2).

그러나 B₂, C, D 병기 및 혈관 침윤과 P-glycoprotein 발현과는 통계학적으로 유의한 차이점을 발견할 수 없었다.

Table 2. Relationship between nodal involvement, tumor differentiation, distant organ metastasis, depth of invasion, angioinvasion and P-gp immunostaining reactivity

Grade	Nodal Involvement		Pathologic type		Distant metastasis		Depth of invasion and angioinvasion						
	-	+	diff.*	undiff.**	-	+	B ₁ ⁻	B ₁ ⁺	B ₂ ⁻	B ₂ ⁺	C ⁻	C ⁺	D
0	0 (0)	2 (6.7)	1 (2.0)	1 (11.2)	1 (2.2)	1 (6.7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (20.0)	1 (20.0)	1 (6.7)
1	10 (33.3)	8 (26.7)	14 (27.4)	4 (44.4)	16 (35.6)	2 (13.3)	5 (55.6)	0 (0)	3 (37.5)	2 (28.6)	1 (20.0)	4 (40.0)	2 (13.3)
2	11 (36.7)	13 (43.3)	20 (39.2)	4 (44.4)	16 (35.6)	8 (53.3)	2 (22.2)	1 (16.7)	3 (37.5)	5 (71.4)	3 (60.0)	2 (20.0)	8 (53.3)
3	9 (30.0)	7 (23.3)	16 (31.4)	0 (0)	12 (26.6)	4 (26.7)	2 (22.2)	5 (83.3)	2 (25.0)	0 (0)	0 (0)	3 (30.0)	4 (26.7)
	30	30	51	9	45	15	9	6	8	7	5	10	15

* Parentheses means percentage of each grade

*Well or moderately differentiated

** Poorly differentiated, signet ring cell type, mucinous type.

2) nm23-H1 protein

대장직장암 조직에서의 nm23-H1 단백질은 암세포의 세포질내에 전반적으로 염색되는 양상을 보였으며 (Fig. 1. C), 대장직장암 조직 60예 전에서 염색되어 100%의 발현율을 보였다.

nm23-H1 단백질의 발현 정도를 4 group으로 분류

하여 암세포의 분화정도, 임파절 전이 유무, 원격장기로의 전이 여부를 비교한 경우에 의미있는 상관 관계를 발견할 수 없었으나 50%이상 염색되는, Grade 2 이상 강하게 발현되는 예들을 비교하였을 경우 임파절 전이가 있는 군보다는 없는 군에서, 미분화암 보다는 분화암에서, 또 원격전이가 있는 경우보다는 원격전이 없는 군에서 nm23-H1단백 발현율이 각각 1.2배, 1.6배, 1.2배 높았으나 통계학적 의미는 없었다 (Table 3).

또한 종양의 병기 및 혈관침윤 정도와 nm23-H1 단백질 발현과의 상관관계를 살펴본 결과 Grade 2이상 강하게 염색된 경우에서 병기 C, D가 B에 비해 다소 발현율이 감소하는 경향이었으나 의미있는 변화는 아니었다.

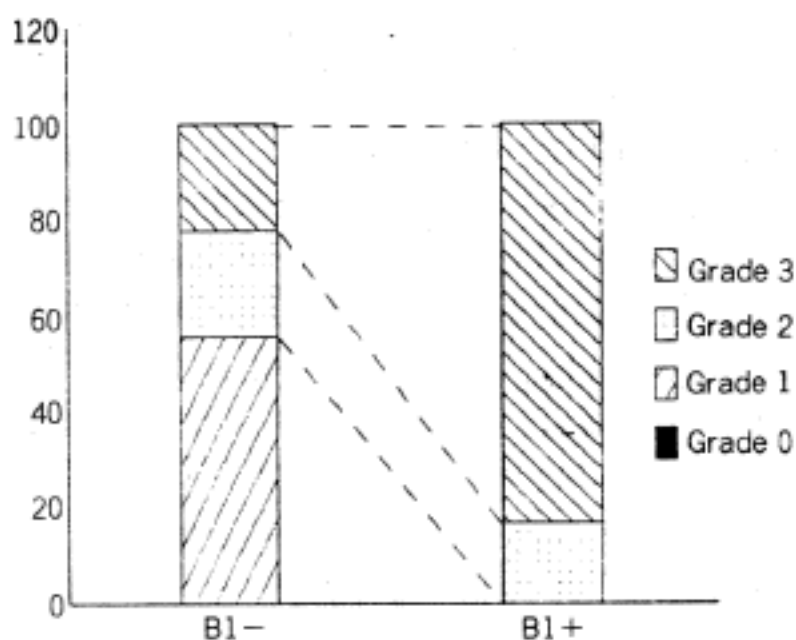


Fig. 2. Relationship between angioinvasion, nonangioinvasion and P-glycoprotein immunostaining reactivity ($P < 0.01$).

고 안

대장직장의 악성종양은 주변조직으로의 침윤 및 원격전이를 흔히 동반하여 치료 결과가 암이 국소적인 경우 80%이상의 장기 생존율을 기대할 수 있으나 전이 병소가 존재하는 경우는 생존율이 5% 미만으로 알려져 있다. 그러므로 대장직장암 환자의 예후는 직접적으로 국소침윤 정도와 원격전이의 유무에 따라 결정

Table 3. Relationship between nodal involvement, tumor differentiation, distant organ metastasis, depth of invasion, angioinvasion and nm23-H1 immunostaining reactivity

Grade	Nodal Involvement		Pathologic type		Distant metastasis		Depth of invasion and angioinvasion						
	-	+	Diff.*	Undiff.**	-	+	B ₁ ⁻	B ₁ ⁺	B ₂ ⁻	B ₂ ⁺	C ⁻	C ⁺	D
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
1	3	7	6	4	6	4	2	0	1	0	1	3	4
	(10.0)	(23.3)	(11.8)	(44.4)	(13.3)	(26.7)	(22.2)	(0)	(12.5)	(0)	(20.0)	(30.0)	(26.7)
2	11	11	20	2	17	5	1	3	4	3	1	3	5
	(36.7)	(36.7)	(39.2)	(22.2)	(37.8)	(33.3)	(11.1)	(50.0)	(50.0)	(42.9)	(20.0)	(30.0)	(33.3)
3	16	12	25	3	22	6	6	3	3	4	3	4	6
	(53.3)	(40.0)	(49.0)	(33.4)	(48.9)	(40.0)	(66.7)	(50.0)	(37.5)	(57.1)	(60.0)	(40.0)	(40.0)
	30	30	51	9	45	15	9	6	8	7	5	10	15

* Parentheses means percentage each grade

* Well or moderately differentiated

** Poorly differentiated, signet ring cell type, mucinous type.

되게 된다.

한편, 대장직장암에서의 간으로의 원격전이는 원발성 종양의 크기나 암의 병기와는 무관한 것으로 알려져 있으며, 이는 원발성 암의 성장을 조절하는 인자와는 무관한 생화학적 또는 생물학적 특성이 전이에 관여한다는 것을 시사하는 것이다. 따라서 현재까지 사용되어온 종양의 병기분류등의 예후 판정인자 이외에 암의 국소침윤과 원격전이를 정확히 예측할 수 있는 새로운 생화학적 표식자가 요구되고 있으며 이들이 실용화될 수 있다면 더욱 현실적이고 실용적인 치료전략을 수립하는 것이 가능할 것이며 또한 악성종양의 진단시 정확한 예후 판정을 할 수 있을 것이다.

P-glycoprotein은 1985년 Bell등에 의해 난소암에서 그 존재가 처음으로 보고되었으며⁶⁾, 화학요법시 세포막에서 energy-driven efflux pump로 작용을 하여 약물이 세포의 작용점에 도달하기 전에 세포밖으로 배출함으로써 약물의 세포내 농도를 감소시키는 역할을 하는 다약물내성유전자(MDR1 gene)의 산물로 알려져 있고, 신체내에서 신장의 근위부 세뇨관, 간장의 소담관, 그리고 소장 및 대장의 상피세포와 미세채장관등 정상조직에 존재하여 이들 장기에서의 세포해독 과정 및 부신피질 호르몬의 세포내 이동등 생리적 기능을 하는 것으로 보고되어 있다^{7,14,18)}.

최근에는 이와 같은 기능이외에 P-glycoprotein이 세포표면에 존재하는 분자량 170 kDa의 transmembrane glycoprotein이기 때문에 일반적인 세포표면의 당단백의 생물학적 기능 즉 동종간 또는 이종간의 세포간 결합 뿐만아니라 면역계, 세포운동성 또는 세포성장 조절등의 기능을 하여 결과적으로 암세포의 생물학적 특성에 영향을 미칠 수 있을 것이라는 연구 결과가 보고되고 있다^{1,4,13,16,17)}.

1991년 Weinstein등¹⁸⁾은 대장암 환자중 P-glycoprotein이 발현되는 군에서 혈관침범과 림파절 전이가 의미있게 증가되어 있음을 관찰하여 P-glycoprotein이 양성인 대장암 세포는 증가된 전이능을 보일 수 있다는 보고를 하였으며 그 기전으로 당단백으로서의 P-glycoprotein의 역할중 세포간 결합, 세포-기질 결합에 영향을 미쳐 암의 침윤성 및 전이성을 증가시키리라 추론하였다.

NCL-JBS-1 단클론 항체를 이용한 본 실험에서는 혈관침윤이 있는 병기B₁의 100%에서 Grade 2이상

P-glycoprotein이 발현되었으며, 반면에 혈관침윤이 없는 B₁은 44.4%에서 Grade 2이상 발현되었고, Grade 3이상 강하게 발현되는 예를 비교할 시는 B₁중 혈관 침윤이 있을 시는 83.3%, 혈관침윤이 없을 시는 22.2%로 매우 의미있는 발현율의 차이를 보여 P-glycoprotein의 현저한 발현은 비교적 침윤 초기의 혈관침범과 관계되는 것으로 사료되었다.

그러나 P-glycoprotein의 발현양상과 림파절 전이 여부, 암세포의 분화도, 원격전이 여부등과는 상관 관계는 없는 것으로 판단되었으며, P-glycoprotein은 전 60예중 96.7%에서 발현되었고 주로 luminal surface에 염색되었으며 일부는 세포질내에 염색되는 경향도 볼 수 있었다. 한편 Saclarides등¹¹⁾은 정상대장조직의 30%, 대장암조직의 70%에서 P-glycoprotein이 발현된다고 보고하였으며 염색상은 일차항원의 종류에 따라 luminal surface에 염색되거나 또는 골지체 그리고 세포질내에도 염색될 수 있다고 하였다^{7,14,18)}.

nm23 유전자는 유방암을 포함한 여러 종양에서 발현이 감소되었을때 전이가 증가된다고 보고되어 전이억제 유전자(non metastatic gene)라고 알려져 있다^{12,15)}.

nm23 유전자의 기능적 역할은 아직 충분히 밝혀져 있지 않으나 아마도 신호전달과 관계있는 Ras 또는 다른 G 단백을 활성화시키는 기능을 갖고 있는 nucleoside diphosphate kinase(NDPK)를 encode 하고 있기 때문에 nm23이 세포의 성장과 증식의 조절과정에 중요한 역할을 할 것이라고 추측되고 있다¹¹⁾.

Yamaguchi등¹⁹⁾은 대장암의 간전이가 있는 군에서 전이가 없는 군에 비해 nm23 mRNA와 이의 단백질의 발현이 현저히 감소되어 있었다고 하였으며, 또한 Ayhan등²⁰⁾도 western blot을 시행하여 nm23 단백질의 발현이 암의 병기가 진행됨에 따라 감소되고, 원발성 암과 간전이 세포에서 면역조직 화학적 염색을 시행한 결과 간전이세포에서 nm23 단백질발현이 감소되어 있다고 하여 대장암에서의 nm23 발현의 감소가 원격전이와 관련이 있다는 추론도 있으나, 반면에 Haut등⁸⁾은 전이성 대장암 조직에서도 초기의 원발성 암조직과 마찬가지로 nm23이 증가되어 발현된다고 하여 대장직장암에서의 예후인자로서의 nm23의 역할에 대해서는 논란이 있는 상태이다.

이에 대장직장암의 침윤 및 전이과정과 nm23 단백질 발현사이에 어떠한 관계가 있는지를 알아보고자 한 본 실험에서도 암세포의 분화정도, 임파절 전이 유무, 원격장기로의 전이 여부에 따른 nm23 단백질 발현의 의미있는 상관관계는 발견할 수 없었으나 50% 이상 염색이 되는 Grade 2 이상의 경우 임파절 전이가 없는 군이 있는 군보다, 분화암이 미분화암보다, 또 원격전이가 없는 군이 있는 군에 비해 발현율이 다소 증가하는 경향이었으며, 또한 병기 C, D가 B에 비해 발현율이 다소 감소되는 경향을 보였으나 통계학적인 의미는 없었다. 따라서 nm23-H1 단백질의 발현은 대장직장암의 침윤 및 전이와는 상관 관계가 없는 것으로 생각되었으며 최근 nm23-H1이 세포 주기 전반에 걸쳐 표현되고 특히 G1 후기, S 초기, G2-M에서 강하게 표현되며 따라서 암세포의 전이 억제기능 보다는 세포 증식에 관련되리라는 연구 결과도 보고되어 있는 실정으로⁹⁾ 그 기능적 역할에 대한 규명이 선행되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

1989년 3월부터 1994년 2월까지 5년동안 충남대학 병원 외과학 교실에서 대장암으로 절제술을 받은 환자들중 파라핀 블록의 보존 상태가 양호한 60예를 대상으로, P-glycoprotein과 nm23-H1 단백질이 대장직장암의 국소침윤 및 전이에 상관관계가 있는지를 알아보고자 면역조직화학 염색을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) P-glycoprotein은 60예중 58예인 96.7%에서 염색되었고 angi invasion이 있는 stage B1에서 non-angi invasive B1, angi invasive B2, C, D 등 기타 다른 조합에 비해 현저히 증가된 염색도를 보였다($P < 0.01$). 그러나 P-glycoprotein의 염색정도와 암세포의 분화도, 임파절 및 원격전이와의 상관관계는 발견할 수 없었다.

2) nm23-H1 단백질 발현은 전예(60예)에서 관찰되었으나 전예에서 국소침윤과 원격 전이에 관련된 의미있는 상관관계는 발견할 수 없었다.

3) 대장직장암조직에서의 P-glycoprotein의 발현은 비교적 침윤 초기에 혈관 침윤을 증가시키는 것으로 사료되었으며 반면에 nm23-H1 단백질은 대장직장암

에서 침윤 및 전이도와 상관관계가 없는 것으로 판단되었다.

REFERENCES

- 1) Akiyama SI, Fojo A, Hanover JA, et al: Isolation and genetic characterization of human KB cell lines resistant to multiple drugs. *Somatic Cell Mol. Genet* 11: 117, 1985
- 2) Ayhan A, Yasui W, yokozaki H, Kitadai Y, Tahara E: Reduced expression of nm23 protein is associated with advanced tumor stage and distant metastases in human colorectal carcinoma. *Virchows Arch B Cell Pathol* 63: 213, 1993
- 3) Bates SE, Lee JS, Dicksyein B, et al: Differential modulation of P-glycoprotein transport by protein kinase inhibition. *Biochemistry* 32: 9156, 1993
- 4) Biedler JL, Meyers MD, Spengler BA, et al: Cellular concomitants of multidrug resistance. *Mechanisms of Durg Resistance in Neoplastic Cells*, pp. 41-68. San Diego, CA: Academic Press, Inc., 1988.
- 5) Biedler JL: Genetic aspects of multidrug resistance. *Cancer* 70: 1799, 1992
- 6) Devita VT, Hellman JS: *Cancer 4th ed.*, J.B LIPPINCOTT Company, Philadelphia, 1993
- 7) Franz Thiebaut, Takashi Tsuruo, Hirofumi Hemada, et al: Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein normal human tissue. *Proc. Natl Acad Sci* 84: 7735, 1987
- 8) Haut M, Steeg PS, Willson JKV, Markowitz SD: Induction of nm23 gene expression in human colonic neoplasms and equal expression in colon tumors of high and low metastatic potential. *J Natl Cancer Inst* 83: 712, 1991
- 9) Igawa M, Rukstalis DB, Tanabe T, Chodak GW: High levels of nm23 expression are related to cell proliferation in human prostate cancer. *Cancer Res* 54(5)L 1313, 1994
- 10) Kramer R, Weber TK, Morse B, et al: Constitutive expression of multidrug resistance in human colorectal tumors and cell lines. *Br J Cancer* 67: 959, 1993
- 11) Liotta LA, and Steeg PS: Clues to the function of nm23 and Awd proteins in development, signal taansduction, and tumor metastasis provided by

- studies of Dictyostelium discoideum. J Natl Cancer Inst* 82: 1170, 1990
- 12) Liotta LA, Steeg PS, Stetler-Stevenson WG: *Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation. Cell* 64: 327, 1991
- 13) Ronison IB, Patel MC, Les I, et al: *Molecular mechanism and diagnostics of multidrug resistance in human tumor cells. Cancer Cells(Cold Spring Harbor)* 7: 81, 1989
- 14) Saclarides TJ, Jakate SM, Coon JS, et al: *Variable expression of p-glycoprotein in normal, inflamed, and dysplastic areas in ulcerative colitis. Dis Colon Rectum* 35(8): 747, 1992
- 15) Steeg PS, Bevilacqua G, Kopper L, Thorgeirsson UP, Talmadge JE, Liotta A, Sobel ME: *Evidence for a novel gene associated with low tumor metastatic potential. J Natl Cancer Inst* 80: 200, 1988
- 16) Weinstein RS, Kuszak JR, Jakate SM, et al: *ABO blood type predicts the cytolocalization of anti P-glycoprotein monoclonal antibody reactivity in human colon and ureter. Hem Pathol* 21: 949, 1990
- 17) Weinstein RS, Kuszak JR, Kluskens LF, et al: *P-glycoprotein in pathology: the multidrug resistance gene family in humans. Hum Pathol* 21: 34, 1990
- 18) Weinstein RS, Jakate SM, Dominguez JM, et al: *Relationship of the expression of the multidrug resistance gene product(P-glycoprotein) in human colon carcinoma to local tumor aggressiveness and lymph node metastasis. Cancer Reserch* 51: 2720, 1991
- 19) Yamaguchi A, Urano T, Fushida S, Furukawa K, et al: *Inverse association of nm23-H1 expression by colorectal cancer with liver metastasis. Br J Cancer* 68(5): 1020, 1993