

두경부 종양에서의 암억제 인자인 p53에 대한 연구

조선대학교 의과대학 병리학교실

서재홍·이미숙·윤신의

p53 Expression in the Head and Neck Tumor

Chae Hong Suh, M.D., Mi Sook Lee, M.D. and Sin Eui Yoon, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine, Chosun University

Mutations in the p53 gene seem to be the most common genetic changes in human malignancies. Mutation or altered p53 expression is a common occurrence in many solid neoplasms, including head and neck carcinomas. Recent studies have also shown p53 alterations in several premalignant conditions of the colon, esophagus, lung, and brain. Preliminary data have suggested that p53 mutations may be involved in tumor progression. This study was performed to determine the incidence of p53 mutations in histologically 27 squamous cell carcinomas, 19 basal cell carcinomas, 18 Schneiderian papillomas, 3 Schneiderian papillomas with malignant transformation, and 15 pleomorphic adenomas of the head and neck region. The degree of p53 gene overexpression was also evaluated according to differentiation, histologic type of tumor, and tumor progression in the head and neck carcinomas. The results were as follows; 1) Eighteen of 27 squamous cell carcinomas, and 4 of 27 dysplasias adjacent to the squamous cell carcinoma of the head and neck expressed p53 protein, but none of the normal control specimens expressed detectable p53 protein. There was no relationship between differentiation of squamous cell carcinoma and p53 protein expression. 2) Twelve of 19 basal cell carcinomas expressed p53 protein; the adenoid type especially overexpressed p53 protein. 3) Nine of 15 pleomorphic adenomas expressed p53 protein especially in the epithelial components. 4) Thirteen of 18 Schneiderian papillomas and all Schneiderian papillomas with malignant transformation expressed p53 protein. The above results indicate that the p53 protein expression is a useful tool for the prediction of tumor progression in the head and neck tumor, but there was no relationship between the differentiation of the tumor and p53 protein expression. (*Korean J Pathol* 1996; 30: 576~586)

Key Words: p53, Squamous cell carcinoma, Basal cell carcinoma, Pleomorphic adenoma, Schneiderian papilloma

서 론

두경부에 발생하는 종양은 최근 증가추세에 있어 여러 연구자들의 관심의 대상이 되고 있다. 그 중 구강점막 등에서 발생하는 편평세포암과 p53 단백질의 발현에 대한 연구가 여러 학자들에 의해서 연구가 활발하게 이루어지고 있다¹. 두경부암을 포함하여 많은 고형성 종양들에서 변조 또는 변이된 p53발현이 보편적으로 나타남이 보고되었다^{2,3}. p53 유전자는 Rb유전자와 함께 종양억제 유전자로 알려져 있으며, 이는 17번 염색체의 단완에 위치한다⁴⁻⁷. p53 단백질은 정상세포에서 자연형으로 존재하여 세포의 성장을 억제하고 있으나, 그 양이 매우 적고 반감기가 짧아 일반적인 면역조직화학 염색에서는 잘 발현되지 않는다⁸. 반면에 p53단백의 돌연변이형은 암 유전자로 작용하여 많은 종류의 암세포에서 과발현되므로 악성종양의 발생과 진행에 관여하고 있으리라 추정하고 있다⁹⁻¹⁴. 유방암, 대장암 및 식도암에서는 p53 양성군이 p53 음성군에 비해 예후가 나쁘다고 알려져 있으며¹⁵⁻¹⁹, 폐암, 전립선암, 갑상선암등에서도 p53양성도는 종양의 악성도, 림프절 전이, 원격전이 등 나쁜 예후인자와 밀접한 연관이 있다고 한다²⁰⁻²³.

이에 저자는 두경부 종양중 편평세포암, 기저세포암, Schneiderian유두종과 다형성 선종을 대상으로 p53 단백질의 발현양상을 비교하고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

본 연구는 1988년 1월부터 1995년 2월까지 조선대학교부속병원에서 절제된 두경부에서 발생한 종양중 편평세포암종 27예, 기저세포암종 19예, Schneiderian 유두종 18예, Schneiderian 유두종에서 암 발생된 3예, 다형성선종 15예를 포함한 총 82예를 대상으로 하였다.

2. 면역조직화학적 염색

관찰대상이 된 조직들은 10% 중성 포르말린에 충분히 고정된 다음, 통상의 과정을 통해 파라핀에 포매하였으며, 이를 4~5 μ m 두께의 절편으로 제작하였다. 절편의 일부는 일반적인 조직학적 소견을 관찰하기 위하여 hematoxylin-eosin 염색을 실시하고, 면역조직화학적염색은 자연형 및 돌연변이형의 p53 단백질에 대해 반응하는 단클론항체(BioGenex CLONE:

BP 53-12-1, U.S.A)을 사용하였다. 양성 대조군은 유방암 조직편을 사용하였으며 최종 발색제로는 AEC (3-amino-9-ethylcarbazole)을 사용하였다. 음성대조군으로는 1차 항체 대신 생리적 식염수를 사용한 후 동일한 방법으로 염색하였다. p53단백의 항원성을 살리기 위해 염색시작 24시간 전에 파라핀 포매조직을 5 μ m로 박절하여 수조에서 probe on plus slide (Fisher Scientific, U.S.A)를 올려 정온기에 하룻밤 건조시킨 다음, xylene으로 탈파라핀시키고 수세후 탈수과정을 거쳐, 전자렌즈를 이용한 과정을 거쳤다. 전자렌즈를 이용한 과정은 10 mM, citrate buffer pH6.0 (stock solutions: A, 0.1 M solution of citrate; B, 0.1 M solution of sodium citrate; working solution: 9 ml of A+41 ml of B, diluted to a total of 500 ml)가 담긴 유리상자에 슬라이드를 넣고 전자렌즈를 750W로 조절하고 매 5분씩 3~5회 반복하였다. 이때 전자렌즈내에서 항온하는 동안 슬라이드가 건조되지 않게 가열을 멈추고 증발된 양만큼 증류수를 보충해 주었다. 그 후 슬라이드는 유리상자에 담긴 채 20분가량 실온에서 냉각시켰고, TBS(30 mM Tris, 150 mM NaCl, pH 7.2)로 세척하였다. 그리고 조직절편 위로 p53 단백질에 대한 항체를 점적시켜 실온에서 40분간 반응시킨 후 ABC(avidin-boitin conjugate)법을 이용하여 염색을 실시하였다.

3. p53 단백질의 판정기준

p53단백은 핵내에 붉은 반점 염색이 전혀 안될 때 0, 1% 이하일 때 \pm , 25% 미만일 때 1+, 50% 미만일 때 2+, 75% 미만일 때 3+, 그리고 75% 이상으로 염색되는 경우 4+로 판정하였다.

연구 결과

1. 임상소견

두경부에 생긴 편평세포암의 남녀는 각각 23명과 4명으로서 남자가 많았으며, 발생연령은 43~88세로써 평균 65.1세이고, 호발부위는 구강 9예, 후두 5예, 혀 4예, 얼굴 5예, 기타가 4예였다. 기저세포암은 남녀는 각각 8명과 11명였으며, 발생연령은 23~79세로써 평균 63.5세이고 호발부위는 안면 10예, 코 7예, 안검 2예였다. Schneiderian 유두종은 남녀 각각 18명, 3명으로서 남자에서 많았으며, 발생연령은 42~79세로써 평균 61.8세이고, 호발부위는 비강 14예, 부비동 4예, 기타 3예였다. 다형성 선종은 남녀 각각 9명과 6명으로서, 발생연령은 26~63세로써 평균 43세이고, 호발부위는 이하선 4예, 악하선 3예, 소타액

선 1예, 기타 4예였다.

2. 조직학적 및 면역조직학적 소견

두검부의 편평세포암에 인접된 정상편평상피세포의 p53단백 발현은 27예 모두에서 음성이었으며, 이형성 편평상피는 27예중 1예에서 4+(Fig. 1), 3예에서 1+정도의 발현을 보였다. 편평세포암은 고분화형(Fig. 2) 17예와 중등도 및 저분화형 10예 이었는데, p53단백 발현이 4+로 과발현을 보이는 예가 11예,

3+가 1예, 2+는 1예, 1+는 5예 그리고 ±4예로서 18예에서 p53단백의 발현이 관찰되었다(Table 1). 이들을 다시 분화도에 따라 관찰하여 보면, 고분화형 편평상피암 17예에서는 4+로 과발현을 보이는 예가 7예, 2+는 1예, 1+는 3예, +는 4예였으며(Fig. 3), 중등도 및 저분화형 10예에서는 4+가 4예, 3+는 1예 그리고 1+는 2예였다(Table 1). 기저세포암의 조직학적 유형은 충실형 6예, 색소형 6예, 유선형 6예 그리고 각화형 1예였다. 이들의 p53단백 발현은 4+로 과

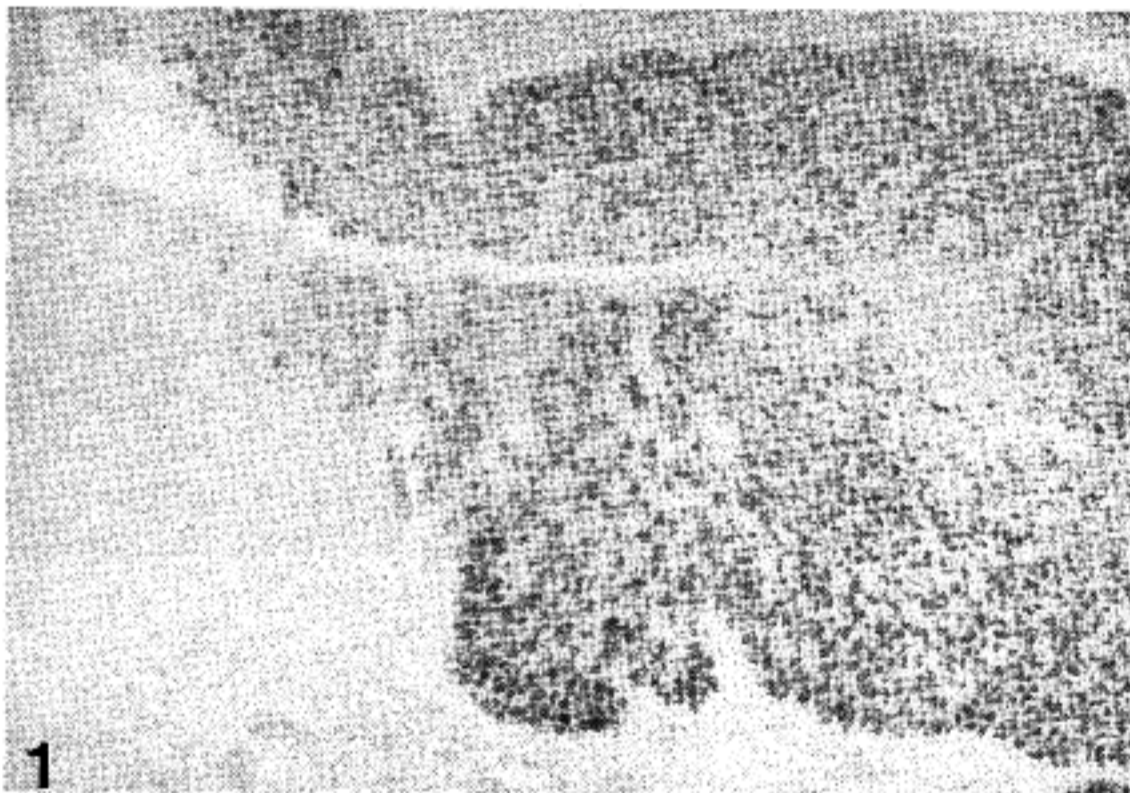


Fig. 1. Immunohistochemical staining of p53 in the dysplastic lesion adjacent to squamous cell carcinoma. Normal epithelium is negative for p53

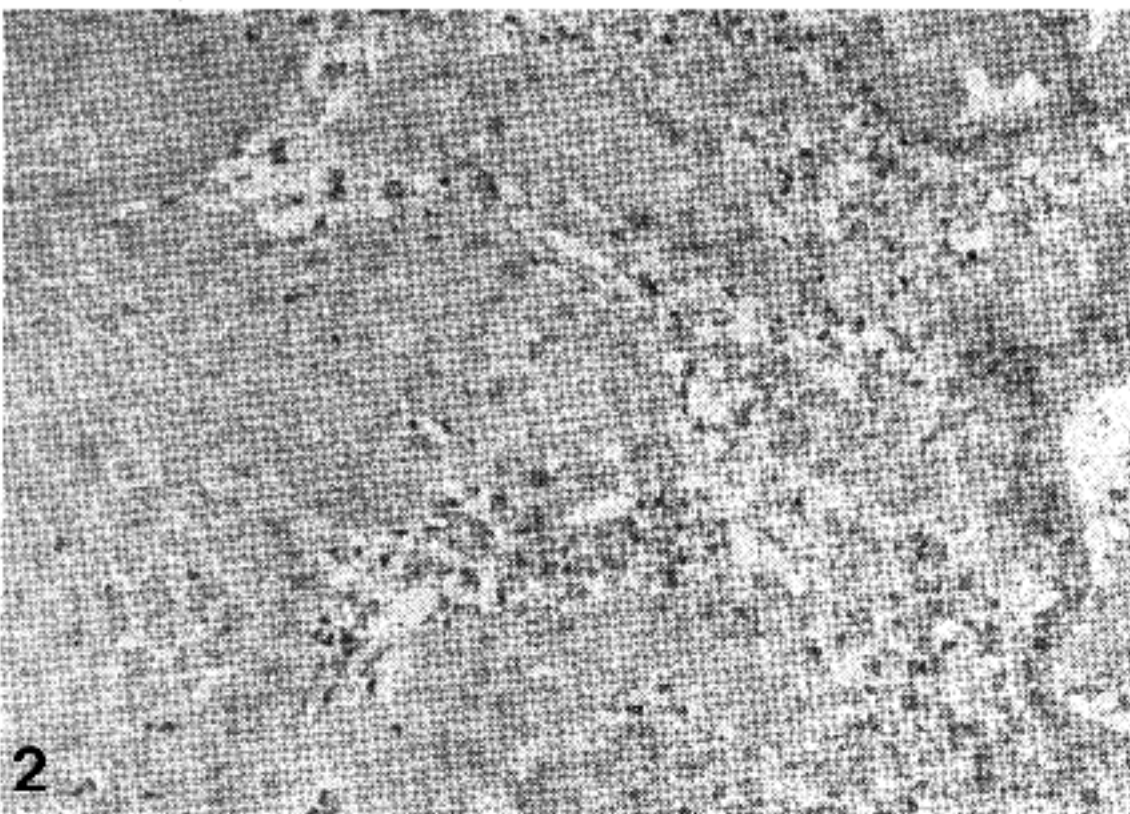


Fig. 2. Squamous cell carcinoma, well differentiated. Epithelial mass in dermis reveals predominantly mature squamous cells showing relatively slight atypicality.

Table 1. p53 overexpression in squamous cell carcinoma of the head and neck and adjacent dysplastic lesion

Histologic type	No. of case	p53 staining positivity					
		0	±	1+	2+	3+	4+
Squamous cell carcinoma	27	5	4	5	1	1	11
Well differentiated	17	2	4	3	1	0	7
Moderately & poorly differentiated	10	3	0	2	0	1	4
Dysplasia	7	0	0	3	0	0	1

Positivity : 0; negative, ±; less than 1%, 1+; less than 25%, 2+; less than 50%, 3+; less than 75%, 4+; more than 75%

Table 2. p53 overexpression in basal cell carcinoma

Histologic type	No. of case	p53 staining positivity					
		0	±	1+	2+	3+	4+
Basal cell carcinoma	19	2	5	5	3	1	3
Solid	6	2	2	1	1	0	0
Pigmented	6	0	1	2	1	1	1
Adenoid cystic	6	0	2	1	1	0	2
Keratotic	1	0	0	1	0	0	0

Positivity : 0; negative, ±; less than 1%, 1+; less than 25%, 2+; less than 50%, 3+; less than 75%, 4+; more than 75%

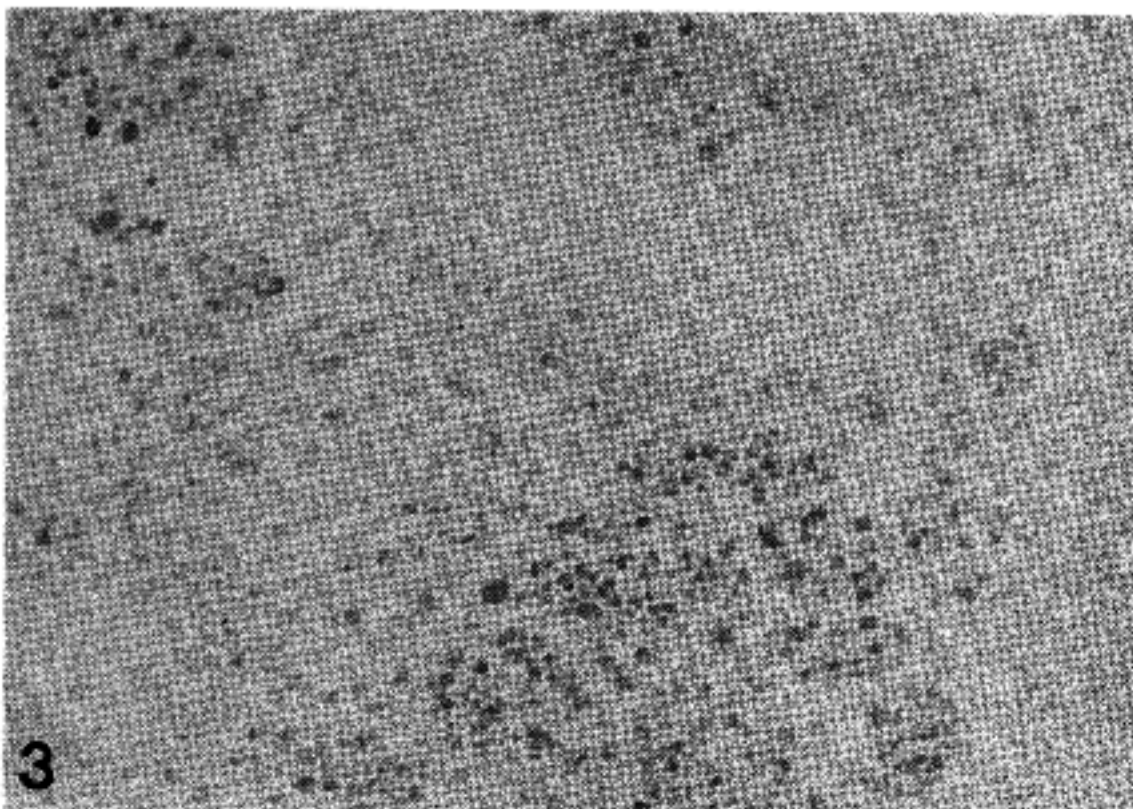


Fig. 3. Immunohistochemical staining of p53 in squamous cell carcinoma in larynx. Most cancer cells demonstrate nuclear p53 expression.

발현을 보이는 예가 3예, 3+ 1예, 2+ 3예, 1+ 5예, 그리고 \pm 5예로 12예에서 p53단백의 발현을 보였다 (Table 2). 조직학적 유형별로 p53의 발현양상을 보면 충실형 5예에서는 1+ 1예, 2+ 1예, + 2예로 4예에서 약한 발현을 보였으며, 색소형 6예에서는 4+ 1예, 3+ 1예, 2+ 1예, 1+ 2예, \pm 1예 였고, 유선형 6예에서는 4+ 2예(Fig. 4), 2+ 1예, 1+ 1예, + 2예에서 p53단백의 발현을 보였다. Schneiderian 유두종 18

예(Fig. 5)에서는 4+로 강하게 p53단백의 발현을 보이는 예가 2예(Fig. 6), 3+가 1예이고, 1+가 10예로서 13예에서 발현을 보였다(Table 3). 특히 Schneiderian 유두종 중 악성변화를 보인 3예에서는 모두 4+로 p53단백의 과발현을 보였다(Fig. 7). 다형성 선종 15예에서 4+ 2예(Fig. 8), 2+ 1예, 3+ 1예, 1+ 5예, \pm 1예로서 총 9예에서 상피세포에 p53 단백질의 발현을 보였다(Table 4).

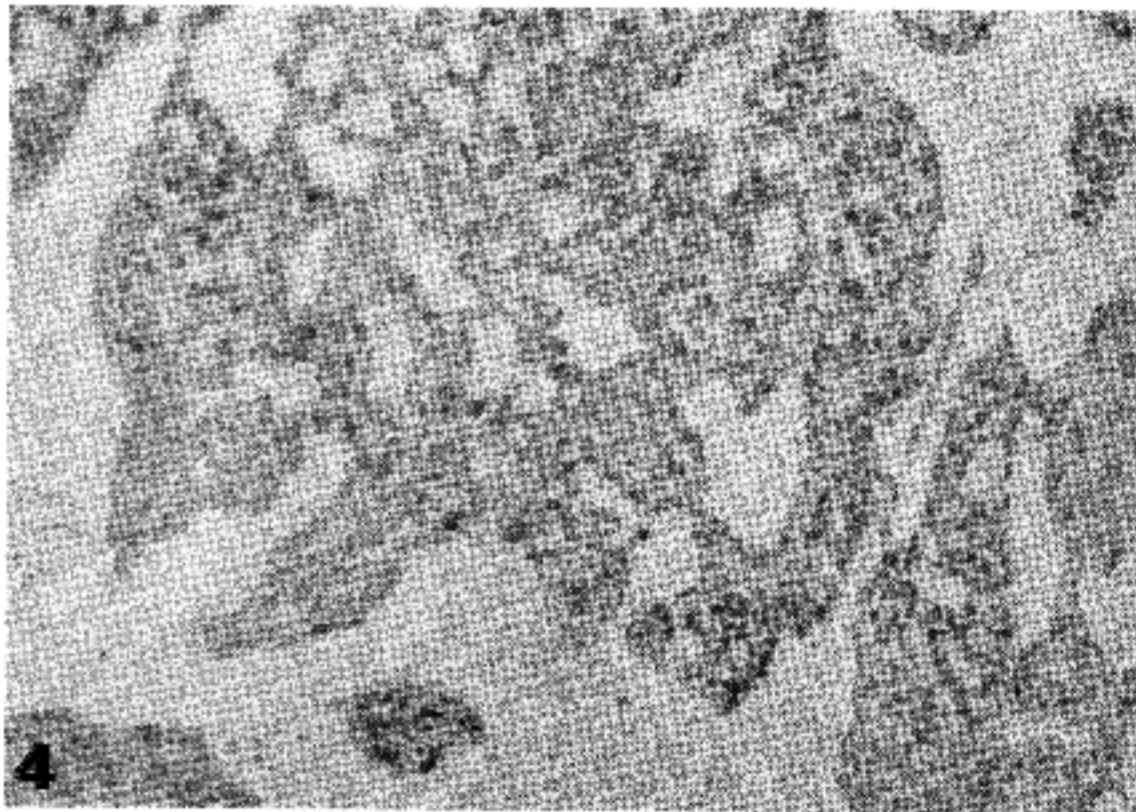


Fig. 4. Adenoid basal cell carcinoma. Immunohistochemical staining of p53 of cribriform patterned epithelial cells reveal widespread overexpression of p53.



Fig. 5. Schneiderian papilloma with endophytic growth pattern.

Table 3. p53 overexpression in Schneiderian papilloma and Schneiderian papilloma with malignant transformation

Histologic type	No. of case	p53 staining positivity					
		0	±	1+	2+	3+	4+
Schneiderian papilloma	18	5	0	10	0	1	2
Schneiderian papilloma with malignant transformation	3	0	0	0	0	0	3
Total	21	5	0	10	0	1	5

Positivity : 0; negative, ±; less than 1%, 1+; less than 25%, 2+; less than 50%, 3+; less than 75%, 4+; more than 75%

Table 4. p53 overexpression in pleomorphic adenoma

Histologic type	No. of case	p53 staining positivity					
		0	±	1+	2+	3+	4+
Pleomorphic adenoma	15	5	1	5	1	1	2

Positivity : 0; negative, ±; less than 1%, 1+; less than 25%, 2+; less than 50%, 3+; less than 75%, 4+; more than 75%

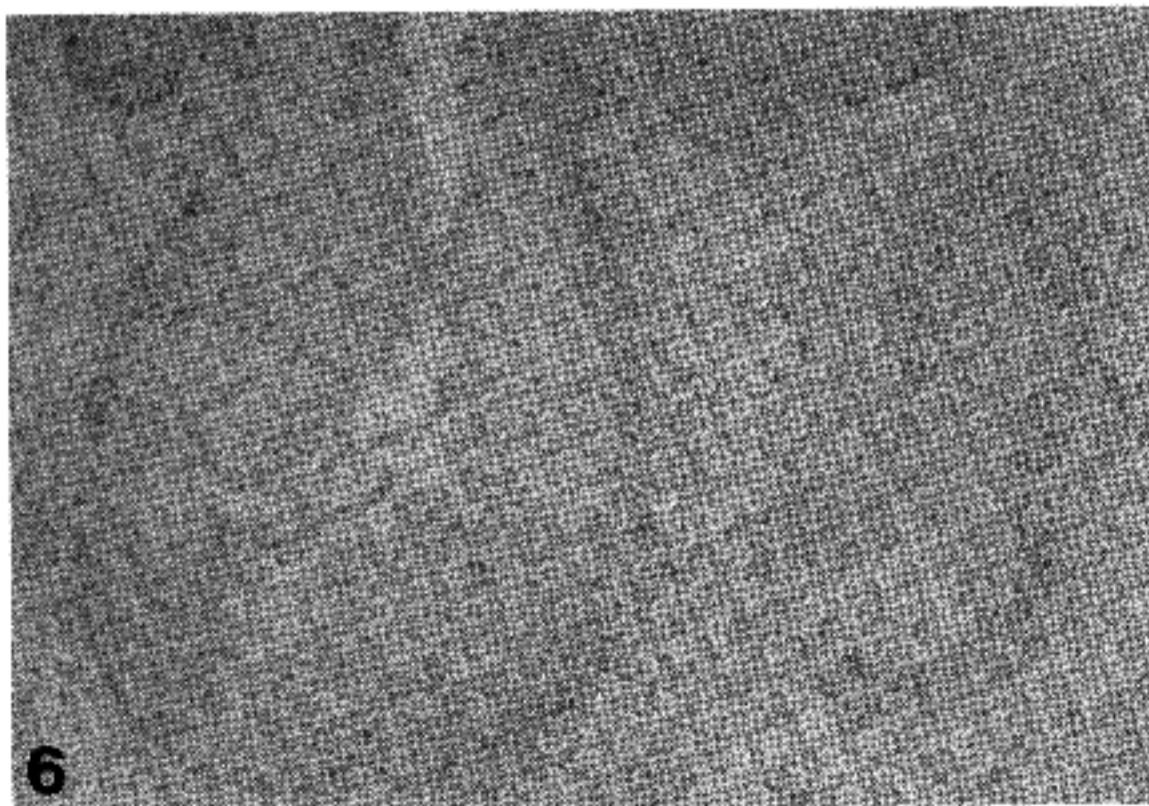


Fig. 6. p53 expression in Schneiderian papilloma. A few p53 positive cells are noted.

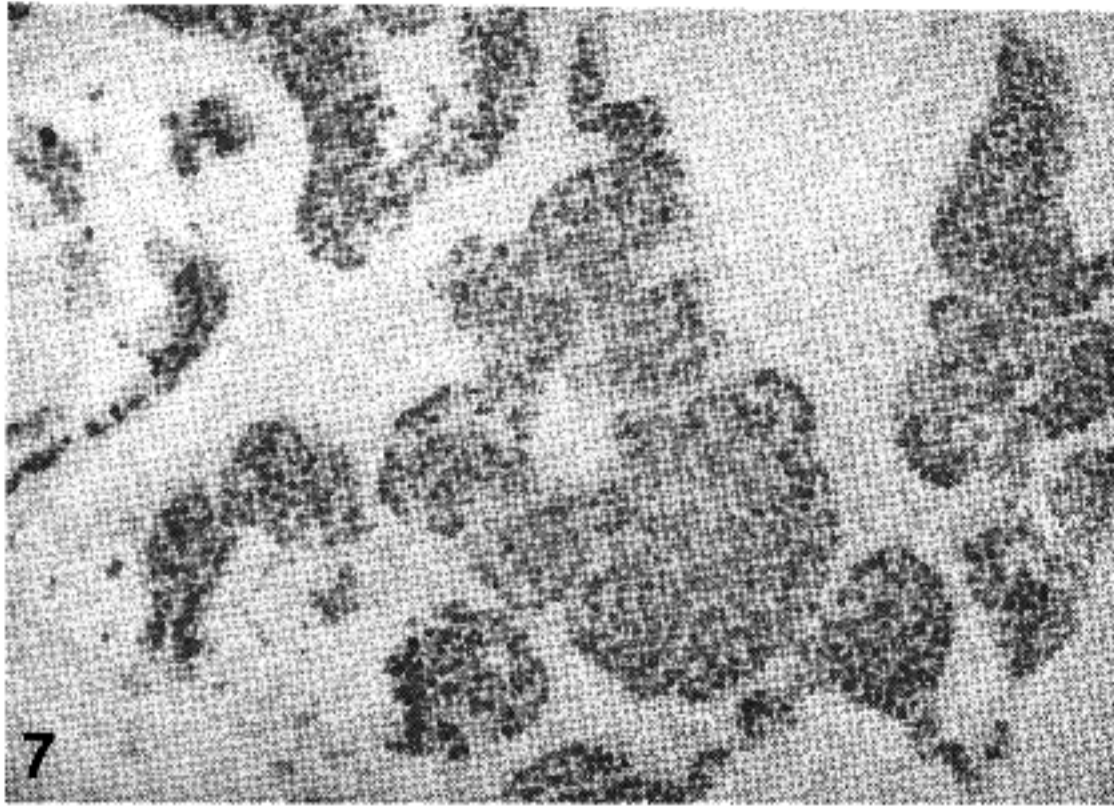


Fig. 7. Progression of Schneiderian papilloma to squamous cell carcinoma. Most of the cancer cells reveal overexpression of p53.

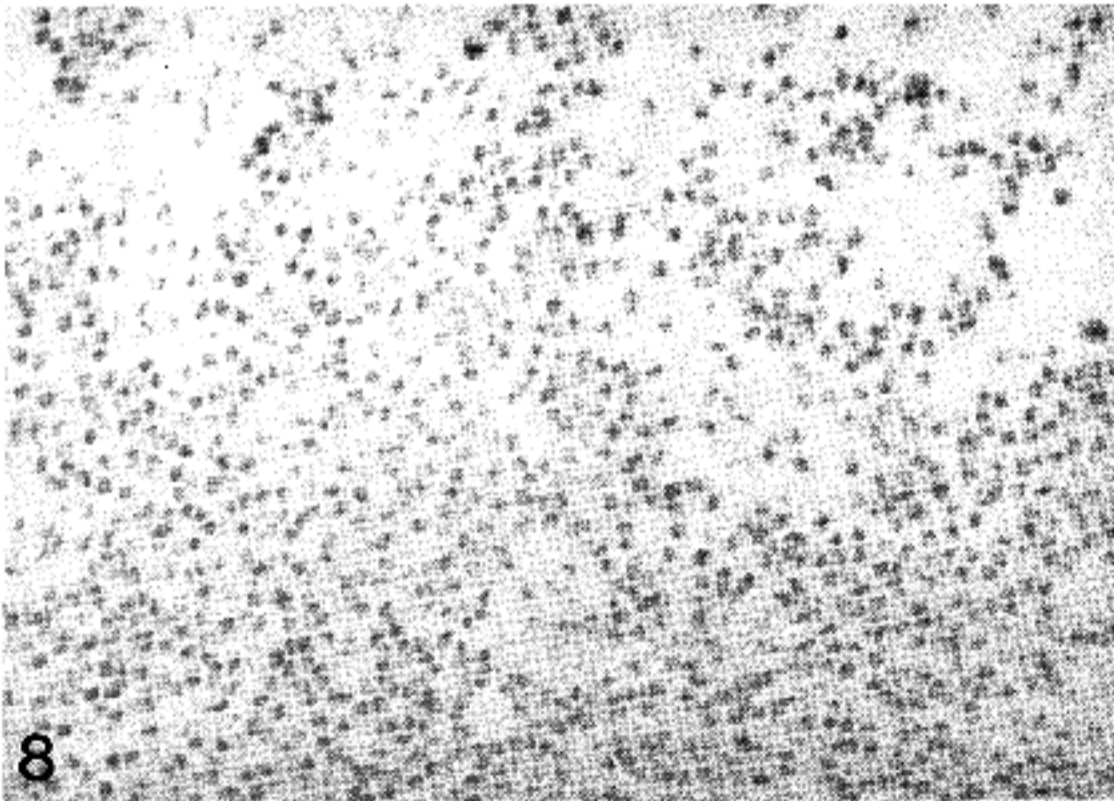


Fig. 8. Immunohistochemical staining of p53 in pleomorphic adenoma. Epithelial cells show nuclear p53 expression in contrast to the adjacent mesenchymal components, in which chondroid cells are uniformly negative for p53.

고 찰

p53변이는 아미노산을 대체시켜 p53분자의 형태를 변화시킴으로써 세포내 단백질의 안정성을 증가시키고 안정상태의 단백을 증가시킨다²⁴. 그러므로 p53의 과발현과 p53유전자의 변이는 밀접한 관련이 있다. 이러한 관련성은 Rodrigues등²⁵에 의한 결장 직장암 연구에서 잘 증명되었는데, 이들의 연구 성적에 의

하면, 75~80%에서 양측 p53대립형질의 소신을 보였으며, 한 쪽은 결실에 의해서 다른 한쪽은 점변이들 통해서 이루어진다고 하였다. p53유전자의 돌연변이는 빈번히 인체암에서 제형 변형을 보이며, p53변이는 일반적으로 과오변이이고, 대부분 G에서 T로의 변위를 보여주며, 그 위치는 17번 염색체의 단완에 위치한다²⁶⁻²⁷. p53유전자 산물인 p53단백이 심상세포에서는 자연형으로 존재하여 세포의 성장을 억제하고 있으나, 그 양이 매우 적어 일반적인 면역

조직화학적 염색에서는 잘 발현되지 않는다. p53 유전자의 과오변이는 자연형 단백질의 그것보다 4~20배가 더 긴 반감기를 가진 비정상 단백을 생산한다. 이 긴 반감기는 핵에서 변형단백을 축적하고 면역조직화학적 염색에서도 그 발현이 인정된다. PAb 1801 p53단클론항체는 p53단백의 자연형과 변이형을 인식하나 자연형은 극히 짧은 반감기를 가져 p53의 염색은 거의 변형 p53단백의 비정상 축적을 나타낸다⁸.

p53단백의 돌연변이형은 암유전자로 작용하여 많은 종류의 암세포에서 과발현되므로 종양의 발생과 진행에 관여하고 있으리라 추정하고 있다.

PAb 1801을 이용한 면역조직화학적 분석은 포르말린으로 고정되고, 파라핀으로 포매된 종양 조직에서도 수행될 수 있으며, 포르말린 고정, 파라핀 포매 조직과 신선한 동결절편 조직에서 염색상의 일치된율이 상피암의 92~96%로 보고 하였으며²⁸, 위장암에서 면역조직화학적 및 유전분석을 시행해 본 바 50%의 예에서 일치된 결과를 보였다²⁹. 그러나 역형성 대세포 림프종을 조사한 최근 연구에서는 p53단백 발현의 높은 수준을 보였으나, p53변이와는 관련되지 않았음을 보고하였다³⁰.

유방암³¹, 결장직장암³², 폐암³³, 난소암³⁴, 전립선암³⁵ 그리고 방광암³⁶에서 p53유전자 변이와 면역조직화학적 검색에 의한 p53단백의 발현과는 밀접한 상관관계를 보였다. 또한 인체 방광암에서 면역조직화학적 염색에 의한 p53 변이 검출의 정확성은 90.3%로 평가되었고, Labeling index가 10 이상인 p53의 명백한 과발현은 13예의 선종에서는 되지 않았으나, 점막내 종양 3예중 2예와, 침윤성 방광암 33예중 21예에서 p53단백의 과발현이 검출되었다. p53단백의 과발현은 선종에서 암으로 진행될 때 현저하게 증가하므로, 과발현된 p53단백의 조직학적 검출은 선종에서 암으로 전이될 때 유용한 한 표지자로 생각되었다. 유방암과 폐암에 관한 최근 연구에서 p53변이와 생존율의 단축과는 밀접한 관련성이 있음을 보여주고 있으며, 종양내의 p53과오변이의 존재는 독립적인 불량한 예후인자로 기술되고 있다³⁷⁻⁴⁰. 위암의 조직학적 분류형인 미만형과 장형 그리고 표면형과 침윤성 위암에 대한 p53단백의 발현에 차이점이 있었으며⁴¹, 대장 및 직장 암종에서도 조직형에 따른 p53단백의 발현에 차이가 있었다⁴². 본 연구에 의하면 편평세포암은 27예중 18예에서 p53단백의 발현을 보였고 특히 11예에서는 과발현을 보였으나, 분화의 정도와 p53단백의 과발현과는 명확한 관련성이 없었다. 편평세포암에서 p53단백 발현정도는 연구자에 따라 다소 차이는 있지만 대체로 50% 이상에서 양

성물을 보이고 있다. 1991년 Field등⁴³은 두경부에 발생한 편평세포암에서 p53 양성률이 67%였으며 Maestro등⁴⁴ 연구에 의하면 후두에 발생한 경우는 60%였으며, 피부에 발생한 경우는 McGreger⁴⁵는 50%, Stephenson등⁴⁶은 54%로 다양한 결과를 보고하였다. 연구자들에 따라 이렇게 다양한 양성율을 나타낸 이유는 각기 이들이 시술한 염색방법과 사용한 일차항체뿐만 아니라 처리된 조직의 차이 때문이라 생각된다.

그러나 Sakai등⁴⁷은 구강내에 발생한 편평세포암에서 p53 유전자의 점 돌연변이 상태를 보고했으며 이는 구강내의 편평세포암의 발생과 밀접하게 관계하므로 p53 단백질 발현은 이들 종양의 진단에 유용한 표지자가 된다고 하였다. 또한 Dolcetti등⁴⁸도 후두에 발생한 편평세포암에서의 과표현된 p53 단백질 발현에 대해 보고했으며 이는 편평세포암의 발생초기에 일어나는 소견이라 하였고, 종양의 발생과 예후 판정에 도움이 된다고 하였다. 본 연구에서도 편평세포암 27예중 심한 이형성 상피가 관찰되었던 7예중 4예에서 p53단백에 발현되어 종양 조기 표지자로 이용될 수 있음을 시사한다. 아울러 p53에 대한 면역조직화학적 염색과 유전자 염기 서열 분석을 함께 시행함으로써 유전자 변이와 면역반응성과의 관련성과 종양의 생물학적 성상을 보다 잘 이해하기 위해서는 더 많은 종양 조직을 대상으로 다양한 악성 종양의 표식자를 이용한 비교 연구가 필요하리라 사료된다.

기저세포암은 19예중 17예에서 p53단백이 발현되었고, 특히 3예에서 과발현을 보였다. 특히 색소형, 유선형의 전예에서 p53단백의 발현을 보여, 조직형에 따른 차이를 보였다. Barbareschi등⁴⁹은 기저세포암에서 p53 유전자 변이와 p53 단백질에 대한 면역조직화학적 염색상과 깊은 관계가 있음을 보고하였다.

Schneiderian 유두종 18예중 13예에서 p53단백에 발현을 보였고, 특히 악성으로 진행된 3예 모두에서 p53단백에 과발현을 보였다.

다형성 선종은 15예중 9예에서 p53단백의 발현을 보였다. 다형성 선종은 성인에서 가장 흔한 이하선의 종양으로 임상적으로 주변조직에 침습없이 서서히 성장하나 악성으로 진행되면 주변조직으로 침습 및 타 장기로의 전이등 공격적 임상 경과를 취하게 된다. 그러나 유감스럽게도 다형성 선종에서 악성 전환을 시사할만한 특별한 소견이나 표식자는 잘 알려져 있지 않는 실정이다.

최근 문헌보고에 의하면 p53 유전자 변이, ras p21과 c-myc등 종양유전자의 활성화가 발암에 관여함이 알려졌다⁵⁰. Richi등⁵¹의 연구에 따르면 다형성 선종

4예와 악성 다형성 선종 4예를 대상으로 면역조직화학 염색방법으로 p53단백을 검출했는데 다형성 선종에서는 단지 1예에서만 양성이었으며, 악성 다형성 선종은 전예에서 양성을 보여 p53 단백질발현이 악성 전환에 관여함을 보고하였다. 그리고 다형성 선종중 p53 단백질 발현을 보인 예에서만 수술적 치료후 재발했음을 발견했다. 이는 p53 단백질발현이 다형성 선종에서 악성으로 전환될 때 발암에 관여함이 시사되지만 본 연구만으로 p53 유전자 변이 단독으로 발암에 관여하고 있다고 말하기는 어렵다. 아울러 c-myc 이나 ras p21등 종양유전자 검색이 추가되어야 될 것으로 생각되며 추적검사를 통해서 재발 및 침습 여부와 p53 단백질 발현과의 관련성을 밝히는 것이 추후 환자의 예후 판정에 중요한 일이라 사료된다.

이상을 종합해 보면 p53단백과 종양세포의 분화 정도와는 관련성이 없으나 편평세포암과 이형성 상피세포에서 p53단백의 발현은 이 종양의 초기 발생과 연관성이 있는 것으로 생각되며, Schneiderian 유두종에서는 악성으로 진행된 전 예에서 과발현을 보여 암으로 진행될 때 p53단백이 현저하게 증가됨을 알 수 있다. 기저세포암, Schneiderian 유두종 그리고 다형성선종에서도 p53단백의 발현을 보인 율이 높아 음성반응을 보이는 정상조직과는 구분이 되므로 종양의 진단에 도움이 되리라 사료된다.

결 론

두경부에서 발생한 편평세포암, 기저세포암, Schneiderian 유두종 그리고 다형성 선종과 이들 종양에 인접한 이형성부위와 정상조직에 대한 p53단백의 면역조직화학적 염색을 통해서 정상, 양성 그리고 악성종양과의 차이점 그리고 종양세포의 분화에 따른 관련성을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 두경부의 편평세포암은 27예중 18예에서 p53 단백질발현을 보였으며, 11예에서 과발현을 보였다. 종양세포의 분화 정도에 따른 차이점은 없었다. 또한 이형성은 27예중 7예의 편평상피암에서 관찰되었는데 이중 4예에서 p53단백이 발현되었다.

2) 기저세포암은 19예중 12예에서 p53단백이 발현되었다. 특히 유선형에서는 과발현을 보였다.

3) Schneiderian 유두종은 18예중 13예에서 p53단백의 발현을 보였으며, 악성으로 진행한 3예에서는 모두 과발현을 보였다.

4) 다형성 선종은 15예중 9예에서 p53단백의 발현을 보였으며 2예에서 과발현을 보였다.

이상을 종합해 보면 p53단백은 정상조직에서는 발

현되지 않고 양성종양과 악성암에서 발현되며, 특히 악성암에서는 현저한 발현을 보였다. 종양세포의 분화 정도와 p53 단백질 발현과는 관련성이 없었으나, 이형성 상피에서 p53단백의 발현을 보이고, 그리고 암으로 진행되는 경우에 과발현을 보였다. 따라서 p53단백 발현이 종양의 조기진단과 진행성 암의 추정에 크게 도움을 주리라 사료된다.

참 고 문 헌

1. Warnakulasuriya KA, Johnson NW. Association of overexpression of p53 oncoprotein with the state of cell proliferation in oral carcinoma. *J Oral Pathol Med* 1994; 23: 246-50.
2. Munchk, WE, Edstrom S, Jungmark E, Kuylenstierna R, Lindholm J. Nuclear DNA content, proliferating cell nuclear antigen(PCNA) and p53 immunostaining in predicting progression of laryngeal cancer in situ lesions. *Int J Cancer* 1994; 56: 95-9.
3. XU L, Davidson BJ, Murty VV, Li RG, Sacks PG, Garlin CP, Schantz SP, Chaganti RSSO. TP53 gene mutations and CCND, gene amplification in head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Int J Cancer* 1994; 59: 383-7.
4. Finlay CA, Hinds PW, Levin AJ. The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 1989; 57: 1083-93.
5. Baker SJ, Markowitz S, Fearon ER, Wilson JKV, Vogelstein B. Suppression of human colorectal carcinoma cell growth by wild-type p53. *Science* 1990; 249: 912-5.
6. McBride OW, Merry D, Girol D. The gene for human p53 cellular tumor antigen is located on chromosome 17 short arm(17p13). *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 130-4.
7. Levin AJ. Tumor suppressor genes. *Bio Essays* 1990; 12: 61-5.
8. Rogel A, Poploker M, Webb CG, Oren M. p53 cellular tumor antigen; analysis of mRNA levels in normal adult tissues, embryos, and tumors. *Mol Cell Biol* 1985; 5: 2851-5.
9. Kawasaki Y, Monden T, Morimoto H, Murotani M, Miyoshi Y, Kobayashi T, Shimano T, Mori T. Immunohistochemical study of p53 expression in microwave fixed, paraffin-embedded sections of colorectal carcinoma and adenoma. *Am J Clin Pathol* 1992; 97: 244-9.
10. Weight PA, Williams GT. Molecular biology and

- gastric carcinoma. *Gut* 1993; 34: 145-7.
11. Prudie CA, O'Grady J, Piris J. p53 expression in colorectal tumors. *Am J Pathol* 1991; 138: 807-13.
 12. Bartek J, Bartkova J, Vojtesek B. Patterns of expression of the p53 tumor suppressor in human breast tissues and tumors in situ and in vitro. *Int J Cancer* 1990; 46: 839-44.
 13. Tohdo H, Yokozaki H, Haruma K, Kajiyama G, Tahara E. p53 gene mutations in gastric adenoma. *Virch Arch Cell Pathol* 1993; 63: 191-5.
 14. Cattoretti G, Rilke F, Andreola S, D'Amato L, Delia D. p53 expression in breast cancer. *Int J Cancer* 1989; 41: 178-83.
 15. Porter PL, Gown AM, Kramp SG, Coltrera MD. Wide spread p53 overexpression in human malignant tumors. *Am J Pathol* 1992; 140: 145-53.
 16. Davidoff AM, Herndon J, Glover NS, Kerns BM, Pence JC, Iglehart JD, Marks JR. Relation between p53 overexpression and established prognostic factors in breast cancer. *Surgery* 1991; 110: 259-64.
 17. Iwaya K, Tsuda H, Hiraide HT. Nuclear p53 immunoreaction associated with poor prognosis of breast cancer. *Jpn J Cancer Res* 1991; 82: 835-40.
 18. Yamaguchi A, Kurosaka Y, Fushida S, Kanno M, Yonemura Y, Miwa K, Miyazaki I. Expression of p53 protein in colorectal cancer and its relationship to short-term prognosis. *Cancer* 1992; 70: 2778-84.
 19. Shimaya K, Shiazaki H, Inoue M, Tahara H, Monden T, Shimano T, Mori T. Significance of p53 expression as a prognostic factor in esophageal squamous cell carcinoma. *Virch Arch A Pathol Anat Histopathol* 1993; 422: 271-6.
 20. Fontanini G, Bigini D, Vignati S, Macchiarini p53, Pepes S, Angelett CA, Pingitore R, Squartini F. p53 expression in non-small cell lung cancer; clinical and biological correlation. *Anticancer Res* 1993; 13: 737-42.
 21. Effert PJ, Neubauer A, Walther PJ, Liu ET. Alteration of the p53 gene are associated with the progression of a human prostatic carcinoma. *J Urol* 1992; 147: 789-93.
 22. Visakarpri T, Kallionieni OP, Heikkinen A, Isola J. Small subgroup of aggressive, highly proliferative prostatic carcinomas defined by p53 accumulation. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 883-7.
 23. Dabashi Y, Sakamoto A, Sugimura H, Mernyei M, Mori M, Oyama T, Machinami R. Overexpression of p53 as a possible prognostic factor in human thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1993; 17: 375-81.
 24. Finlay CA, Hinds PW, Tan TH. Activating mutations for transformation by p53 produce a gene product that forms an hsc70-p53 complex with an altered half-life. *Mol Cell Biol* 1988; 8: 531-9.
 25. Rodrigues NR, Rowan A, Smith ME. p53 mutations in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7555-9.
 26. Gannon JV, Greabes R, Iggo R, Lane DP. Activating mutations in p53 produce a common conformational effect: a monoclonal antibody specific for the mutant form. *EMBO J* 1990; 9: 1595-602.
 27. Bartek J, Bartkova J, Vojtesek B. Aberrant expression of the p53 malignancies. *Oncogene* 1991; 6: 1699-703.
 28. Kerns BJ, Jordan PA, Moore MB. p53 overexpression in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue detected by immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 1992; 40: 1047-51.
 29. Scarpa A, Capelli P, Mukai K. Pancreatic adenocarcinomas frequently show p53 gene mutations. *Am J Pathol* 1993; 142: 1534-43.
 30. Cesarman E, Inghirami G, Chadburn A. High levels of p53 protein expression do not correlate with p53 gene mutations in anaplastic large cell lymphoma. *Am J Pathol* 1993; 143:845-56.
 31. Bartek J, Iggo R, Gannon J. Genetic and immunohemical analysis of mutant p53 in human breast cancer cell lines. *Oncogene* 1990; 5: 893-9.
 32. Quinlan DC, Davidson AG, Summers CL. Accumulation of p53 protein correlates with a poor prognosis in human lung cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 4828-31.
 33. Vahakangas KH, Samet JM, Metcalf RA. Mutations of p53 and ras genes in radon-associated lung cancer from uranium miners. *Lancet* 1992; 339: 576-80.
 34. Marks JR, Davidoff AM, Kerns BJ. Overexpression and mutation of p53 in epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 2979-84.
 35. Navone NM, Troncoso P, Pisters LL. p53 protein accumulation and gene mutation in the progression of human prostate carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85: 1657-69.
 36. Cordon-Cardo C, Dalbagni G, Saez GT. p53 mutations in human bladder cancer: genotypic versus phenotypic patterns. *Int J Cancer* 1994; 56: 347-53.
 37. Iwaya K, Tsuda H, Hiraide H. Nuclear p53 immunoreaction associated with poor prognosis of breast cancer. *Jpn J Cancer Res* 1991; 82: 835-40.
 38. Quinlan DC, Davidson AG, Summers CL. Accumulation of p53 protein correlates with a poor prognosis in human lung cancer. *Cancer Res* 1992; 52: 4828-31.
 39. Thorlacius S, Borreson AL, Erfjord JE. Somatic p53

- mutations in human breast carcinomas in an Icelandic population : prognostic factor. *Cancer Res* 1993; 53: 1637-41.
40. Marchetti A, Buttitta F, Merlo G. p53 Alterations in non-small cell lung cancers correlate with metastatic involvement of hilar and mediastinal lymph nodes. *Cancer Res* 1993; 53: 2846-51.
 41. Uchino S, Noguchi M, Hirota T, Itabashi M, Saito T, Kobayashi M, Hirohashi S. High incidence of nuclear accumulation of p53 protein in gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 1992; 22: 225-31.
 42. Hanski C, Bornhoeft G, Shimoda T, Hanski ML, Lane DP, Stein H, Riecken EO. Expression of p53 protein in invasive colorectal carcinomas of different histologic types. *Cancer* 1992; 70: 2772-7.
 43. Field JK, Spandidos DA, Malliri A, Gosney JR, Yiagnisis M. Elevated p53 expression correlates with a history of heavy smoking in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Br J Cancer* 1991; 64: 573-7.
 44. Maestro R, Dolcetti R, Gasparotto D, et al. High frequency of p53 gene alterations associated with protein overexpression in human squamous cell carcinoma of the larynx. *Oncogene* 1992; 7 :1159-66.
 45. McGregor JM, Yu CC, Dublin EA, Lévison DA, MacDonald DM. Aberrant expression of p53 tumor suppressor protein in non melanoma skin cancer. *Br J Dermatol* 1992; 127: 463-9.
 46. Stephenson TJ, Royds J, Silcocks PB, Bleehen SS. Mutant p53 oncogene expression in keratoacanthoma and squamous cell carcinoma. *Br J Dermatol* 1992; 127: 566-70.
 47. Sakai E, Rikimura K, Ueda M, Matsumoto Y, Enomoto S, Yamamoto H. The p53 tumor suppressor gene and ras oncogene mutations in oral squamous cell carcinoma. *Int. J Cancer* 1992; 52: 867-72.
 48. Dolcetti R, Doglioni C, Maestro R, et al. p53 overexpression is an early event in the development of human squamous cell carcinoma of the larynx: genetic and prognostic implications. *Int J Cancer* 1992; 52: 178-82.
 49. Barbareschi M, Girlando S, Cristofolini P, et al. p53 protein expression in basal cell carcinomas. *Histology* 1992; 21: 579-81.
 50. Deguchi H, Hamano H, Hayashi Y. C-myc, ras p21 and p53 expression in pleomorphic adenoma and its malignant form of the human salivary glands. *Acta Pathol Jpn* 1993; 43 :413-22.
 51. Richi PD, Li YQ, Deutsh M, et al. The role of p53 gene in the malignant transformation of pleomorphic adenomas of the parotid gland. *Anticancer Res* 1994; 14: 2253-58.
-