

## 비호지킨 림프종에서 DNA Topoisomerase II $\alpha$ , Ki-67, p53 및 p27 발현변화

이경민 · 설미영 · 강현정 · 신동훈  
최경운 · 김활웅 · 김지연 · 박도윤  
이창훈

부산대학교 의과대학 병리학교실

접 수 : 2005년 5월 24일  
게재승인 : 2005년 9월 9일

책임저자 : 설 미 영  
우 602-739 부산광역시 서구 아미동 1가 10  
부산대학교 의과대학 병리학교실  
전화: 051-240-7716  
Fax: 051-242-7422  
E-mail: mysol@pusan.ac.kr

### Altered Expression of DNA Topoisomerase II $\alpha$ , Ki-67, p53 and p27 in Non-Hodgkin's Lymphoma

Kyeong Min Lee, Mee Young Sol, Hyun Jeong Kang, Dong Hoon Shin,  
Kyung Un Choi, Hwal Woong Kim, Jee Yeon Kim, Do Youn Park and  
Chang Hun Lee

Department of Pathology, College of Medicine, Pusan National University, Busan, Korea

**Background :** Topoisomerase II (TOPO II) is an enzyme that separates intertwined chromosomes during DNA synthesis by transiently breaking and joining DNA strands. The level of TOPO II is one of the determinants of cellular sensitivity to anti-tumor drugs in non-Hodgkin's lymphoma patients. The alpha form of TOPO II has been recently used as a marker of cellular proliferation. High levels of TOPO II $\alpha$  are expressed in aggressive and proliferative tumors. **Methods :** This study was designed to evaluate the relationship between TOPO II $\alpha$  expression and clinicopathological parameters including age, gender, the serum LDH level, the serum  $\beta_2$ -microglobulin level and stage, or expressions, of Ki-67, p53 and p27, in non-Hodgkin's lymphoma. We analyzed forty-one biopsied tissue specimens from patients with non-Hodgkin's lymphoma. **Results :** The expression of TOPO II $\alpha$  increased with the clinical stage and it was correlated with Ki-67 and p53 expressions. However, TOPO II $\alpha$  expression did not have any significant correlation with age, gender, the serum LDH level, the serum  $\beta_2$ -microglobulin level and the p27 expression. **Conclusions :** TOPO II $\alpha$  expression is a useful marker of cellular proliferation and it may serve as a prognostic factor of a tumor's progression and aggressiveness in non-Hodgkin's lymphomas.

**Key Words :** Non-Hodgkin's lymphoma; Topoisomerase II $\alpha$ ; Protein p53; Ki-67 antigen; p27 antigen

DNA 국소이성화효소(topoisomerase) II (TOPO II)는 세포가 증식하거나 손상된 DNA를 수정할 때 DNA 이중나선을 열어주는 역할을 한다.<sup>1</sup> 또한 TOPO II는 비호지킨 림프종에서 여러 가지 항암제에 대한 감수성을 결정짓는 중요한 요소 가운데 하나다.<sup>2</sup> TOPO II는 두 가지의 아형이 존재하는데, 170 kD의 TOPO II $\alpha$ 와 180 kD의 TOPO II $\beta$ 가 그것이다.<sup>3</sup> 이 중 TOPO II $\alpha$ 는 증식 중인 세포에서 발현되며, 종양 세포에서는 증식능을 나타낼 수 있다.<sup>4</sup> TOPO II $\alpha$ 와 TOPO II $\beta$ 는 약리학적으로나 생화학적으로 다르며 세포 증식이 일어날 때 서로 다른 조절 기능을 한다.<sup>5</sup> TOPO II $\alpha$ 는 핵질(nucleoplasm)과 비핵질에 모두 존재하고 TOPO II $\beta$ 는 비핵질에 적정량이 존재한다. 간질에 존재하는 TOPO II $\alpha$ 는 염색질 고리를 형성하고 DNA 복제와 전사에 직접 관여한다.

TOPO II는 임상적으로 중요한 항암제의 표적이다.<sup>6</sup> TOPO II 억제제는 DNA 구조를 변형시키고, 복제 중인 DNA 갈래를

중지시켜 유전자에 변화를 일으킨다.<sup>5,7</sup> 또한 TOPO II 억제제는 Fas 수용체를 활성화하거나 미토콘드리아에 손상을 입혀 세포자멸사를 유도한다.<sup>8</sup> TOPO II 억제제는 p53과 상호작용하면 DNA의 분절을 만들고 분리된 DNA 갈래의 결합을 막는 작용을 증가시킨다.<sup>9</sup> p53의 기능이 소실되면 알킬화 약제와 TOPO II 계열의 약제에 대한 저항성을 갖게 되고 림프종에서 p53의 기능 소실로 인해 약제 저항성이 나타나기도 한다.<sup>9</sup> p27 역시 종양을 억제하는 역할을 한다.<sup>10,11</sup> 세포 주기를 조절하는 cyclin-dependent kinase inhibitor p27은 cyclin E-cyclin-dependent kinase 복합체를 억제하여 주요한 종양 억제 유전자로 작용하고 있다. 이런 기능의 소실은 여러 암에서 나쁜 예후와 관련이 있다.

비호지킨 림프종 환자를 치료할 때는 주로 TOPO II 억제제를 치료에 사용하는데, 이 항암제에 대한 저항성이 강해져 많은 환자들이 사망에 이르고 있다. 최근 비호지킨 림프종에서 약제 저항성의 기전을 이해하고 좀더 효과적인 치료를 위해 노력하고

있으며, 분자 생물학적 표지자를 통한 약제 저항성 측정을 기본으로 하는 예후 인자도 개발하고 있다.

저자는 비호지킨 림프종에서 세포 증식능 표지자인 TOPO II $\alpha$ 의 발현 양상과 임상 병리학적 특성의 상관성을 알아보고, 대표적인 증식 표지자인 Ki-67의 발현 양상과 비교하였다. 또한 TOPO II $\alpha$  억제제에 대한 저항성과 관련된 p53 및 세포주기를 억제하는 p27 단백질 발현과의 상관성을 알아보고자 하였다.

## 재료와 방법

### 재료

본 연구는 1998년 1월부터 2003년 8월까지 부산대학교병원에서 림프절 절제 생검을 시행하여 비호지킨 림프종으로 진단된 41예를 대상으로 하였다. 환자의 연령은 24세부터 83세까지로 평균 연령은 61.98세였고, 남자가 17명, 여자가 24명이었다. 부위별로는 경부 림프절을 포함한 림프절 18예(43.9%)와 안와를 포함한 두경부 17예(41.5%), 위점막 2예(4.9%), 유방 2예(4.9%), 난소 1예(2.4%), 비장 1예(2.4%) 등에서 발생하였다. 조직학적 유형은 미만성 큰 B 세포 림프종이 40예(97.6%), 여포성 림프종 1예(2.4%)였다. 임상 병기에 따라 보면 1기 30예(73.2%), 2기 5예(12.2%), 3기 3예(7.3%), 그리고 4기는 3예(7.3%)였다. 환자들의 혈청학적 검사에서 LDH,  $\beta_2$ -작은 글로불린( $\beta_2$ -microglobulin)의 수치는 내원 당시를 기준으로 측정하였다(Table 1).

### 방법

#### 면역조직화학염색

10% 포르말린으로 고정된 파파린 포매 조직에서 4  $\mu$ m 두께로 절편을 만들고 표면에 poly-L-lysine을 바른 유리 슬라이드에 부착했다. 60°C에서 30분간 보온 후 10% 자일렌으로 10분씩 세 차례 탈파라핀을 시켰다. 단계적으로 알코올을 처리하여(100% 2회, 95%, 80%, 70%) 함유화 과정을 거친 후 흐르는 물에서 2분간 씻은 후 증류수에 담겼다. 항원 노출을 위해 10 mM/L 구연산 완충액에서 전자레인지를 이용하여 5분간 끓이고 5분간 식힌 후 항원 노출과정을 4회 반복하였다. 그런 다음 실온에서 한 시간 동안 완전히 식힌 후 증류수에 30초간, phosphate buffered saline (PBS)에 10분간 담겼다. 3% 과산화수소로 30분에서 한 시간정도 처리한 뒤 증류수로 씻어냈다.

다시 PBS에 20분간 담근 후 조직 내 비특이 단백을 차단하고 일차 항체를 처리하였다. 일차 항체로는 TOPO II $\alpha$  (3F6, Zymed Laboratories, Inc. South San Francisco, CA, USA), Ki-67 (7B11, Zymed Laboratories, Inc. South San Francisco, CA, USA, 1:50), p53 (SP5, Neomarkers, Fremont, CA, USA, 1:100), p27 (F-8, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz,

Table 1. Clinical findings of cases

Factors	Variables	No. of case (%)
Age	$\leq 60$	14 (43.1)
	$>60$	27 (65.9)
Sex	male	17 (41.5)
	female	24 (58.5)
Site	lymph node	18 (43.9)
	head and neck	17 (41.5)
	gastrointestinal	2 (4.9)
	spleen	1 (2.4)
	breast	2 (4.9)
	ovary	1 (2.4)
LDH	normal	15 (36.6)
	elevated	26 (63.4)
$\beta_2$ -microglobulin	normal	15 (36.6)
	elevated	26 (63.4)
Histologic type	diffuse large B cell lymphoma	40 (97.6)
	follicular lymphoma	1 (2.4)
Stage	I	30 (73.2)
	II	5 (12.2)
	III	3 (7.3)
	IV	3 (7.3)

CA, USA)을 사용하였다. 4°C에서 하룻밤 동안 일차 항체를 처리한 후 30분간 PBS에 담가 두었다.

이후의 염색 과정에서는 Histostatin plus kit, horseradish peroxidase (Zymed Laboratories Inc., South San Francisco, CA, USA)를 이용하였고, 발색은 aminoethyl carbazole (AEC) 용액을 이용하였다. Mayer 헤마톡실린으로 대조 염색한 후 universal mount (Dako, Capintaria CA, USA)로 일차 봉입하고 마리놀과 자일렌의 1:1 혼합액으로 2차 봉입한 후 광학현미경 (Olympus BX51, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다. TOPO II $\alpha$ , Ki-67, p53, p27의 면역조직화학염색의 판독은 핵에 발색된 경우를 양성으로 보고 1,000개의 세포에서 양성인 세포 수를 세어 백분율로 나타냈다(Fig. 1).

#### 통계학적 분석

통계학적 처리는 윈도우용 SPSS 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 Chi-square 및 t-test 검정을 사용하였고 p값이 0.05 미만인 경우를 통계학적으로 의미 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

### DNA TOPO II $\alpha$ 의 발현 양상과 임상병리학적 인자들의 상관성

본 실험에서는 모든 예에서 양성 소견을 보였으나, 양성 세포가 1% 미만인 것에서부터 70%에 이르는 것까지 다양하게 발현하였다. TOPO II $\alpha$  발현은 평균값 20%를 기준으로 그 이하의

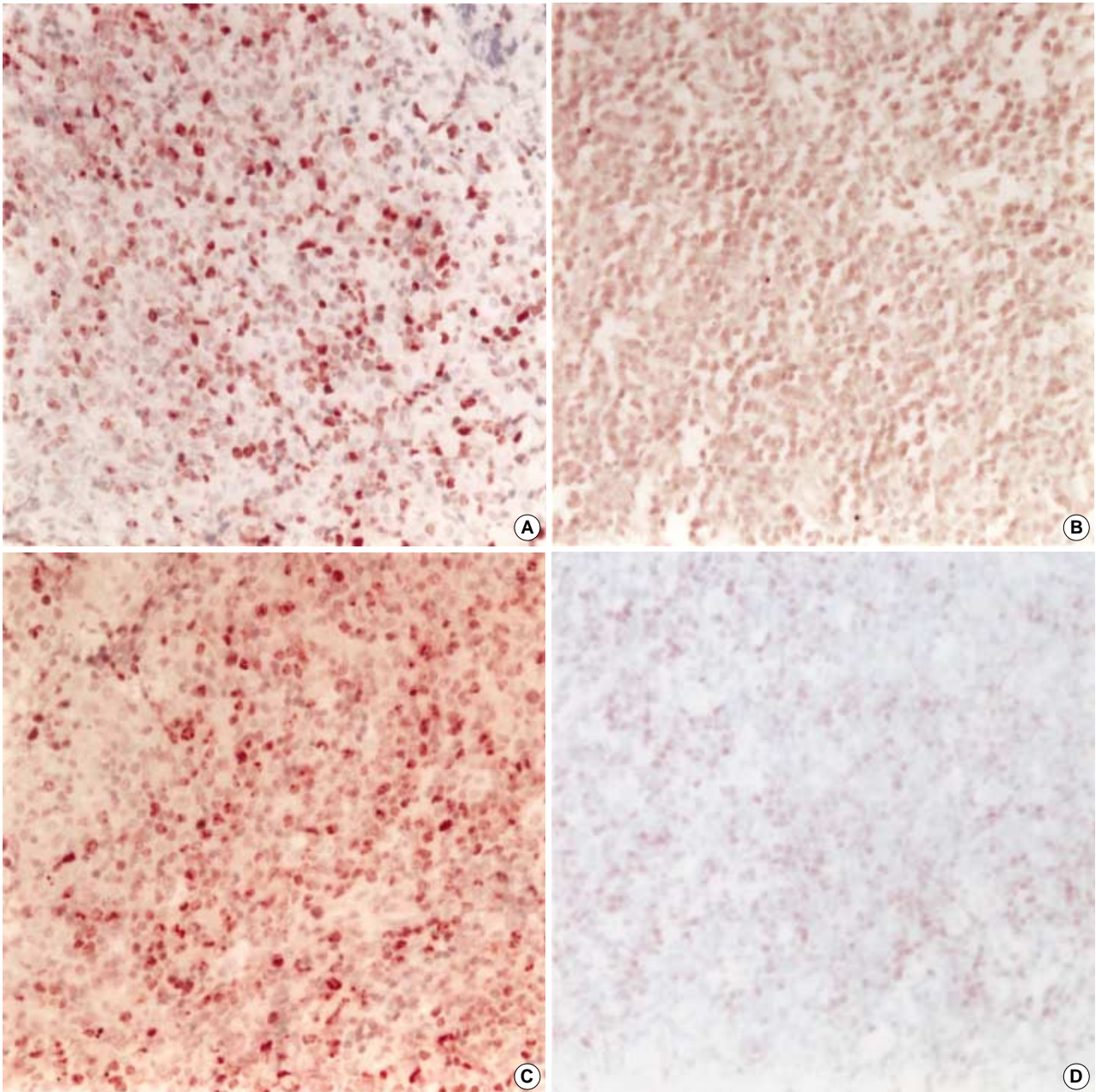


Fig. 1. Immunohistochemical stainings for topoisomerase II $\alpha$  (A), Ki-67 (B), p53 (C) and p27 (D) show positive reaction in nuclei of tumor cells.

발현을 보이던 저발현군, 그 값을 초과하여 발현하는 경우를 과발현군으로 정의하였다. 저발현군은 28예(68.3%), 과발현군은 13예(31.7%)로 나타났다(Table 2).

TOPO II $\alpha$  발현과 임상병리학적 인자들의 상관성을 분석해 보았을 때, TOPO II $\alpha$ 의 발현과 임상병기는 유의한 상관관계를 나타냈다. 그 밖에 나이, 성별, 발생 부위, 혈청 LDH 수치와  $\beta_2$ -작은 글로불린 수치 등과는 유의한 상관성이 관찰되지 않았다(Table 3).

#### DNA TOPO II $\alpha$ 와 Ki-67, p53 및 p27발현의 상관성

TOPO II $\alpha$ 의 발현 양상과 Ki-67, p53 및 p27의 발현 양상과의 상관성을 분석해 보았다. Ki-67은 70% 발현을 기준으로 과발현군과 저발현군으로 나누었다. TOPO II $\alpha$ 와 Ki-67의 발현군은 통계학적으로 유의한 상관관계를 보였다( $p=0.013$ ) (Table 4).

p53의 경우는 5% 발현을 기준으로 과발현군과 저발현군으로 나누었다. p53의 발현군은 TOPO II $\alpha$  발현군과 정의 상관관계를 가지며 통계적으로 유의한 상관성을 보였다( $p=0.013$ ) (Table 4). p27 발현은 정도에 따라 4등급으로 나누었다. 1등급은 0-

**Table 2.** Immunohistochemical results of DNA topoisomerase II $\alpha$  expression

Area of TOPO II $\alpha$ expression (%)	No. of cases (%)
0-5	17 (41.5)
6-10	4 (9.7)
11-20	7 (17.1)
21-30	4 (9.7)
31-50	3 (7.3)
51-100	6 (14.6)

**Table 4.** The relationship between expressions of TOPO II $\alpha$ , p53, Ki-67 and p27

	Total (No. of cases)	TOPO II $\alpha$ expression (No. of cases)		p-value
		low	high	
p53 expression	41	28	13	0.013
≤5%	34	26	8	
>5%	7	2	5	
Ki-67 expression	41	28	13	0.013
≤70%	36	27	9	
>70%	5	1	4	
p27 expression	41	28	13	0.618
grade 1	0	0	0	
grade 2	6	4	2	
grade 3	17	13	4	
grade 4	18	11	7	

25%, 2등급은 26-50%, 3등급은 51-75%, 그리고 4등급은 76-100%의 발현을 보이는 것으로 정의하였고 TOPO II $\alpha$  발현과 통계학적 유의성은 없었다(Table 4).

### 고찰

TOPO II는 DNA 복제 시 DNA 이중나선을 잘라내는 역할을 한다. 국소이성화효소는 I형, II형, III형, IV형이 밝혀져 있으며 그 작용점이 서로 다르다. 그 중 II형은 포유동물에서  $\alpha$ 와  $\beta$ 의 두 아형이 있으며, TOPO II $\alpha$ 는 증식하는 세포에서 발현되고 정모세포, 림프질의 배중심, 증식기의 자궁내막 등에서 정상적으로 나타나며 증식이 멈춘 상태에서는 발현되지 않는다.<sup>2</sup> 그에 반해 TOPO II $\beta$ 는 증식하는 세포 뿐 아니라 휴지기의 세포에서도 발현되지만 TOPO II $\alpha$ 에 비해 그 기능이 잘 알려져 있지 않다.<sup>12</sup>

TOPO II $\alpha$ 는 증식하는 세포, 특히 급속히 증식하는 종양세포에서는 더욱더 많이 발현된다. 종양의 이러한 특성을 이용하여 TOPO II $\alpha$ 를 억제하는 항암제를 개발하였고, 그러한 항암제로는 에피포도필로톡신(epipodophyllotoxin)계 약물과 안트라사이클린(anthracycline)계 약물 등이 있다. 이 약물들은 DNA 나선 구조를 생성하는 과정에서 DNA TOPO II $\alpha$ 를 억제한다. 형성된 TOPO II-DNA 복합체는 안정화되고 결과적으로 DNA 합성

**Table 3.** The relationship between clinicopathologic factors and TOPO II $\alpha$  expression in non-Hodgkin's lymphomas

Factors	Total (No. of cases)	TOPO II $\alpha$ expression (No. of cases)		p-value
		low	high	
Age	41	28	13	0.691
≤60	14	9	5	
>60	27	19	8	
Sex	41	28	13	0.678
male	17	11	6	
female	24	17	7	0.632
Site	41	28	13	
nodal	18	13	5	
extranodal	23	15	8	0.865
Serum LDH	41	28	13	
normal	15	10	5	
elevated	26	18	8	0.386
Serum $\beta_2$ -microglobulin	41	28	13	
normal	15	9	6	
elevated	26	19	7	0.046
Stage	41	28	13	
I and II	35	26	9	
III and IV	6	2	4	

과 세포 증식을 중지시켜 세포자멸사를 야기한다.<sup>13</sup> 이러한 항암제는 TOPO II $\alpha$ 에 작용하므로 종양세포 내 TOPO II의 양이 많을수록 감수성이 높아지고 치료효과가 커지며, 또한 약제 저항성도 낮아진다.<sup>14</sup> Lohri 등은 TOPO II의 발현 정도가 치료에 대한 반응을 미리 알 수 있는 표지자가 될 수 있다고 보고하였다.<sup>15</sup>

Bofin 등은 TOPO II $\alpha$  유전자가 HER-2 종양 유전자가 있는 17q12-q12에 가까이 위치해 있어 유방암에서는 HER-2가 TOPO II $\alpha$ 의 유전자 증폭과 결손 등을 일으켜 TOPO II 억제제에 대한 감수성과 저항성에 변화를 야기한다고 하였다.<sup>16</sup> 위암이나 폐암에서는 HER-2의 증폭보다 TOPO II $\alpha$ 의 증폭이 더 흔히 보였고, 급성 림프모구 백혈병과 방광암에서는 TOPO II $\alpha$ 의 증폭만이 관찰되었다 한다. 이러한 종양에서도 TOPO II $\alpha$ 의 증폭과 결손은 화학요법제의 저항성에 영향을 미친다고 하였다.<sup>16</sup>

희소돌기아교세포종에서는 증식을 나타내는 표지자로 p21, p27 그리고 TOPO II $\alpha$  (KiS1) 등이 알려져 있고, 고등급인 경우 TOPO II $\alpha$  발현이 10% 이하인 군과 이상인 군에서 재발과 사망, 생존율에 유의한 차이를 보였다고 하였다.<sup>17</sup> Gotlieb 등은 난소의 상피성 종양에서 TOPO II $\alpha$ 와 Ki-67의 발현이 임상병기가 진행할수록 더 증가하고, 발현이 증가할수록 생존기간이 유의하게 짧아졌다고 보고하였다.<sup>18</sup> 또한 위암에서는 종양의 크기가 큰 경우 TOPO II $\alpha$ 의 발현이 50% 이상 증가하였다고 보고하였다.<sup>19</sup>

본 연구에서는 비호지킨 림프종의 TOPO II $\alpha$  과발현군에서 Ki-67의 발현이 유의하게 높았다. 종양 세포에서 TOPO II $\alpha$ 가 증식능을 나타내듯이, 비호지킨 림프종에서도 TOPO II $\alpha$ 가 증식능을 예측할 수 있는 인자가 될 수 있다.

TOPO II 억제제는 여러 가지 경로로 세포의 자멸사를 유도 하는데, 세포 자멸사와 관련되는 여러 유전자, bcl2, p53, myc 등에도 영향을 미쳐 다른 화학 약제의 내성에도 관여하게 된다.<sup>20</sup> 앞에서 언급한 것과 같이 p53은 TOPO II 억제제와의 상승작용을 일으켜 약제 반응성을 증진시킨다. 일반적으로 재발되었거나 약제 불응성 비호지킨 림프종에서는 p53 유전자의 변이나 과증식, bcl2 유전자의 과증식을 함께 보고하고 있는데,<sup>8,9</sup> 정상적인 p53이 있는 경우보다 비정상 p53이 있는 경우가 악물에 대한 저항성이 높다고 한다.<sup>21</sup>

p53은 여러 다양한 중앙유발 인자들의 자극 때문에 과오돌연 변이를 일으킨다.<sup>22</sup> 미만성 큰 B 세포 림프종과 버킷림프종의 경우 17%에서 25%까지 발견되어 p53의 변이가 고등급의 림프종으로 진행되는 중요 기전으로 생각된다.<sup>23</sup> p53의 과발현은 일반적으로 p53 변이와 관계가 깊는데 p53 단백질의 과발현은 고성장하는 비호지킨 림프종에서 비교적 흔하고 저성장 림프종에서는 드물다.

p53의 변이는 MALT 림프종<sup>24</sup>과 여포성 림프종<sup>25</sup>의 큰세포 전환과 강한 관련이 있으며 외투층세포림프종의 모세포성 변이 (blastoid variant)<sup>26</sup>와도 관련이 깊다. p53의 변이로 말미암아 임상적으로 병의 진행이 빨라지고 저성장하는 림프종인 만성 B-림프구성 백혈병, 여포성 림프종, 가장자리층림프종, 외투층세포 림프종 등의 치료에 대한 저항성도 나타난다.<sup>26</sup> p53의 기능 소실은 저등급의 B 세포 림프종을 진행시키고 p53의 과발현이나 변이는 낮은 생존율과 관련이 있다.<sup>27</sup> 이 연구에서 p53의 발현이 TOPO II $\alpha$ 의 발현과 비례하여 증가한 것은 림프종에 축적된 p53 유전자의 변이와 공격적 중앙의 특성을 반영하는 것으로 보인다.

반응성 림프 조직에서는 p27의 발현이 증식 억제와 관련이 있다. p27은 외투층림프구(mantle lymphocyte), 속질 흉선세포(medullary thymocytes) 등의 정지세포 등에서 강하게 발현되며 소포중심 B 세포, 소포사이 큰 림프세포와 피질 흉선세포에서는 저발현된다.<sup>28</sup> 일반적으로 림프종에서 p27은 악성도가 높을수록 소실되며 비호지킨 림프종의 나쁜 예후와 연관된다. 본 연구에서는 TOPO II $\alpha$ 와 p27의 상관성을 비교해 보았으나 유의한 관계를 보이지 않았다. 이것은 미만성 큰 B 세포림프종만을 대상으로 하였으며 대상의 크기도 작기 때문이라고 생각된다.

임상병기가 높을수록 TOPO II $\alpha$ 의 발현이 유의하게 높으므로, TOPO II $\alpha$ 의 과발현은 임상병기가 높은 공격적인 림프종을 의미한다. 외투층 세포림프종<sup>29</sup>이나 호지킨 림프종,<sup>30</sup> 난소중앙<sup>8</sup>에서도 중앙이 진행될수록 TOPO II $\alpha$ 가 많이 발현된다고 보고하였다. 이처럼 TOPO II $\alpha$ 는 여러 중앙에서 임상병기와 관련이 있어 중앙이 진행될수록 많이 발현된다. p53, p16, p27 등의 발현은 증식능의 증대와 중앙의 공격성에 관여하며 생존기간을 단축시키는데,<sup>23</sup> 임상병기가 높을수록 TOPO II $\alpha$ 는 과발현되므로 이들과 TOPO II $\alpha$ 는 연관성이 있을 것이다. 한편 TOPO II $\alpha$ 의 과발현을 보이는 중앙은 TOPO II 억제제에 대한 감수성이 크다

는 것을 의미하므로 TOPO II 억제제로 치료하면 효과가 크고 예후가 좋을 것으로 생각된다.

## 참고문헌

1. Uemura T, Ohkura H, Adachi Y, Morino K, Shiozaki K, Yanagida M. DNA topoisomerase II is required for condensation and separation of mitotic chromosomes in *S. pombe*. *Cell* 1987; 50: 917-25.
2. Pommier Y. DNA topoisomerase I and II in cancer chemotherapy: update and perspectives. *Cancer Chemother Pharmacol* 1993; 32: 103-8.
3. Tan KB, Dorman TE, Falls KM, *et al.* Topoisomerase II alpha and topoisomerase II beta genes: characterization and mapping to human chromosomes 17 and 3, respectively. *Cancer Res* 1992; 52: 231-4.
4. Woessner RD, Mattern MR, Mirabelli CK, Johnson RK, Drake FH. Proliferation- and cell cycle-dependent differences in expression of the 170 kilodalton and 180 kilodalton forms of topoisomerase II in NIH-3T3 cells. *Cell Growth Differ* 1991; 2: 209-14.
5. Drake FH, Hofmann GA, Bartus HF, Mattern MR, Croke ST, Mirabelli CK. Biochemical and pharmacological properties of p170 and p180 forms of topoisomerase II. *Biochemistry* 1989; 28: 8154-60.
6. Liu LF. DNA topoisomerases poisons as antitumor drugs. *Annu Rev Biochem* 1989; 58: 351-75.
7. Chen AY, Liu LF. DNA topoisomerases: essential enzymes and lethal targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1994; 34: 191-218.
8. Kaina B. DNA damage-triggered apoptosis: critical role of DNA repair, double-strand breaks, cell proliferation and signaling. *Biochem Pharmacol* 2003; 66: 1547-54.
9. Wilson WH, Teruya-Feldstein J, Fest T, *et al.* Relationship of p53, bcl-2, and tumor proliferation to clinical drug resistance in non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1997; 89: 601-9.
10. Catzavelos C, Bhattacharya N, Ung YC, *et al.* Decreased levels of the cell-cycle inhibitor p27Kip 1 protein: prognostic implications in primary breast cancer. *Nat Med* 1997; 3: 227-30.
11. Loda M, Cukor B, Tam SW, *et al.* Increased proteasome-dependent degradation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 in aggressive colorectal carcinomas. *Nat Med* 1997; 3: 231-4.
12. Turley H, Comley M, Houlbrook S, *et al.* The distribution and expression of the two isoforms of DNA topoisomerase II in normal and neoplastic human tissues. *Br J Cancer* 1997; 75: 1340-6.
13. Bauman ME, Holden JA, Brown KA, Harker WG, Perkins SL. Differential immunohistochemical staining for DNA topoisomerase IIalpha and beta in human tissues and for DNA topoisomerase IIbeta in non-Hodgkin's lymphomas. *Mod Pathol* 1997; 10: 168-75.
14. Korkolopoulou P, Angelopoulou M, Siakantari M, *et al.* Evaluation

- of DNA topoisomerase IIalpha expression provides independent prognostic information in non-Hodgkin's lymphomas. *Histopathology* 2001; 38: 45-53.
15. Lohri A, Reuter J, Gudat F, Herrmann R. Topoisomerase IIalpha mRNA and tumour cell proliferation in non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol* 1997; 50: 22-6.
  16. Jarvinen TA, Liu ET. Topoisomerase IIalpha gene (TOP2A) amplification and deletion in cancer--more common than anticipated. *Cytopathology* 2003; 14: 309-13.
  17. Korshunov A, Golanov A. The prognostic significance of DNA topoisomerase II-alpha (Ki-51), p27/Cip-1, and p27/Kip-1 protein immunorexpression in oligodendrogliomas. *Arch Pathol Lab Med* 2001; 125: 892-8.
  18. Gotlieb WH, Goldberg I, Weisz B, *et al*, Topoisomerase II immunostaining as a prognostic marker for survival in ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2001; 82: 99-104.
  19. Coleman LW, Bronstein IB, Holden JA. Immunohistochemical staining for DNA topoisomerase I, DNA topoisomerase II-alpha and p53 in gastric carcinomas. *Anticancer Res* 2001; 21: 1167-72.
  20. Muscarella DE, Rachlinski MK, Sotiriadis J, Bloom SE. Contribution of gene-specific lesions, DNA-replication-associated damage, and subsequent transcriptional inhibition in topoisomerase inhibitor-mediated apoptosis in lymphoma cells. *Exp Cell Res* 1998; 238: 155-67.
  21. Chen PM, Chiou TJ, Hsieh RK, *et al*. p53 gene mutations and rearrangements in non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1999; 85: 718-24.
  22. Villuendas R, Piris MA, Orradre JL, *et al*. p53 protein expression in lymphomas and reactive lymphoid tissue. *J Pathol* 1992; 166: 235-41.
  23. Sanchez-Beato M, Saez AI, Navas IC, *et al*. Overall survival in aggressive B-cell lymphomas is dependent on the accumulation of alterations in p53, p16, and p27. *Am J Pathol* 2001; 159: 205-13.
  24. Du M, Peng H, Singh N, Isaacson PG, Pan L. The accumulation of p53 abnormalities is associated with progression of mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Blood* 1995; 86: 4587-93.
  25. Lo Coco F, Gaidano G, Louie DC, Offit K, Chaganti RS, Dalla-Favera R. p53 mutations are associated with histologic transformation of follicular lymphoma. *Blood* 1993; 82: 2289-95.
  26. Hernandez L, Fest T, Cazorla M, *et al*. p53 gene mutations and protein overexpression are associated with aggressive variants of mantle cell lymphomas. *Blood* 1996; 87: 3351-9.
  27. Ichikawa A, Kinoshita T, Watanabe T, *et al*. Mutations of the p53 gene as a prognostic factor in aggressive B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 1997; 337: 529-34.
  28. Sanchez-Beato M, Saez AI, Martinez-Montero JC, *et al*. Cyclin-dependent kinase inhibitor p27KIP1 in lymphoid tissue: p27KIP1 expression is inversely proportional to the proliferative index. *Am J Pathol* 1997; 151: 151-60.
  29. Schrader C, Meusers P, Brittinger G, *et al*. Topoisomerase IIalpha expression in mantle cell lymphoma: a marker of cell proliferation and a prognostic factor for clinical outcome. *Leukemia* 2004; 18: 1200-6.
  30. Provencio M, Corbacho C, Salas C, *et al*. The topoisomerase IIalpha expression correlates with survival in patients with advanced Hodgkin's lymphoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1406-11.