

## 위암에서 p27Kip1 단백질의 발현과 예후와의 상관관계

인제대학교 상계백병원 외과학교실, <sup>1</sup>병리학교실

부동수 · 한세환 · 배병노 · 김기환 · 김홍주 · 김영덕 · 김홍용 · 박경미<sup>1</sup>

### Expression of p27Kip1 Protein Associated with Poor Clinical Outcome in Human Gastric Cancer

Dong-Su Bu, M.D., Sehwan Han, M.D., Byung-Noe Bae, M.D., Ki-Hwan Kim, M.D., Hong-Joo Kim, M.D., Young-Duck Kim, M.D., Hong-Yong Kim, M.D. and Kyeong-Mee Park, M.D.<sup>1</sup>

**Purpose:** p27Kip1 protein is an inhibitor of cyclin-dependent kinases and is thought to be a potential prognostic indicator for numerous human cancers. We investigated the expression of p27Kip1 in gastric cancer in order to estimate its clinical utility.

**Methods:** Immunohistochemical assay for p27Kip1 protein was performed in 64 patients with primary gastric cancer. The correlation between p27Kip1 and clinical-biological parameters including patient survival was analyzed.

**Results:** p27Kip1 expression was suppressed in 40 (62.5%) of 64 gastric cancer patients. Expression of p27Kip1 was significantly reduced in poorly differentiated cancers (82.1%, 23/28;  $P=0.015$ ) and was also reduced in tumors with a high S-phase fraction as compared with tumors showing a low S-phase fraction (86.7%, 26/30, 41.2%, 14/34;  $P=0.0002$ ). In univariate analysis, the extent of the disease ( $P<0.001$ ), and reduced expression of p27Kip1 ( $P=0.0006$ ) were statistically significant to predict the patient's outcome, however depth of invasion ( $P=0.008$ ) and pathologic stage ( $P=0.009$ ) emerged as significant prognostic indicators in the multivariate analysis.

**Conclusion:** The expression of p27Kip1 is closely linked with cell proliferation and differentiation of human gastric cancer. p27Kip1 appears to have potential as a prognostic marker in the management of gastric cancer patients. (*J Korean Surg Soc* 2001;61:153-157)

**Key Words:** Cell proliferation, Immunohistochemistry, Prognosis, Gastric cancer, p27Kip1

**중심 단어:** 세포 증식, 면역화학염색, 예후, 위암, p27-Kip1

Departments of Surgery and <sup>1</sup>Pathology, Inje University, Sanggye Paik Hospital, Seoul, Korea

### 서 론

p27Kip1은 cyclin-dependent kinase (cdk)의 활성화를 억제하여 세포의 비정상적인 성장을 억제하는 것으로 알려져 있다. 배양세포주에서는 TGF- $\beta$ 에 의하여 p27Kip1의 과발현이 유도되고 세포들은 S기로의 진행이 차단되어 G1기에서 성장을 멈추는 현상이 일어난다.(1) 따라서, 세포 증식의 조절자, 즉 종양 억제 유전자로 작용한다. 여러 논문에서 유방암, 뇌하수체암, 대장암, 위암 등에서 p27Kip1 발현이 정상조직에서보다 감소함을 볼 수 있다.(2-6) p27Kip1에 의한 세포성장의 적절한 기능이 상실되면 암세포의 성장 능력이 증가하게 되는데 p27Kip1 단백질의 발현이 변화된 세포에서도 p27Kip1 유전자의 변이는 드물게 확인되고 있다.(7-10) 그러나, 유방암의 경우 p27 mRNA의 변화가 50%에서 관찰되고(11) 서던블롯(Southern blot)으로 p27Kip1 유전자의 변화가 없는 위암에서도 57%에서 p27Kip1 단백질 발현의 감소가 보고되었다.(12) Mori 등(5)은 p27Kip1 양성세포의 감소는 유의하게 병기, 종양 침윤의 깊이, 그리고 임파선 전이와 일치한다고 보고하였다. 따라서, p27Kip1 발현의 감소는 위암에서 고도 악성의 지표가 될 수 있다.

상피 이형성(dysplasia)와 암의 발생과정에서 p27Kip1 단백질의 변화가 선행되는 것인지 혹은 단순히 증가된 세포 성장에 따라 p27Kip1 단백질의 발현 저하가 나타나는 것인지는 밝혀져 있지 않다. Loda 등(4)은 비정상적인 p27Kip1 발현은 주로 단백질 레벨에서 ubiquitin-proteasome-dependent-degradation을 통해, mRNA 레벨의 변화없이 매개됨을 주장하였고, 이는 p27Kip1 발현이 전사(transcription) 이후 즉 단백질대사 수준에서 결정된다는 간접적인 증거를 보

책임저자 : 한세환, 서울시 노원구 상계 7동 761-1  
☎ 139-707, 인제대학교 부속 상계백병원 일반외과  
Tel: 02-950-1023 Fax: 02-933-9389  
E-mail: shwhan@unitel.co.kr

접수일 : 2001년 7월 6일, 게재승인일 : 2001년 8월 27일

여 주는 것이다.(6) p27Kip1은 여러 cdk들의 활성화를 억제하며, p27Kip1의 감소는 암세포의 특징인 빠른 성장을 억제할 수 있는 기능의 상실을 의미하며 암의 악성도를 평가할 수 있는 현상으로 생각된다.

본 연구에서는 위암환자의 조직에서 p27Kip1 단백질의 발현을 검색하여 flow cytometry로 측정된 세포의 성장지표와의 상관성을 분석하여 인체암에서도 세포배양시스템과 같이 p27Kip1이 세포 성장 조절에 관여하는 가를 알아보고자 시행되었다. p27Kip1 단백질의 발현 양상에 따른 조직학적 소견의 변화를 분석하였고, p27Kip1의 예후인자로서의 유용성을 분석하였다.

## 방 법

본원에서 1994년 1월부터 1995년 12월까지 위절제를 받은 환자 중 p27Kip1 단백질의 유세포분석과 면역조직화학분석이 가능할 정도의 신선한 조직채취가 가능했던 64명의 환자를 대상으로 하였다. 임상기록 및 병리학적 소견은 의무기록지를 근거로 하여 후향적으로 분석하였다. 모든 환자들은 2군 림프절 이상(D2)의 위전절제술 또는 위아전절제술을 시행하였다. 평균 나이는 61세(23~75)였고, 남녀 비는 1.78 : 1이었다. 각 환자의 병기는 International Union Against Cancer의 TNM 분류에 따라 결정되었다. 26명(40.6%)은 1기, 9명(14.1%)은 2기, 16명(25.0%)은 3기, 그리고 4기는 13명(20.3%)였다. 수술 후 항암요법은 조기위암인 경우를 제외하고 모두에게 시행하였는데, 5-FU (600 mg/m<sup>2</sup>), mitomycin (20 mg/m<sup>2</sup>), 그리고 leucovorin (15 mg/m<sup>2</sup>)을 이용, 3주의 투여간격으로 6주기 동안 시행하였다.

### 1) Flow cytometry

유세포분석은 위암 조직을 기계적 분해한 후 원심분리를 한 뒤 걸러진 세포들은 다시 250 ul의 완충용액(10 mM Citrate, pH 7.5, 20 mM NaCl, 20 mM MgCl<sub>2</sub>)에서 다시 resuspension과정을 거쳤다. 10 ul/ml의 트립신과 트립신 억제제, DNase-free RNase를 첨가한 후, 걸러진 세포들은 실온에서 30분간 방치되었다. Flow cytometry를 분석하기 전에 DNA염색은 500 ul의 propidium iodide solution (PI; Molecular Probes, Eugene, OR)을 이용하였고 암실에서 4°C의 PBS (100 ul/ml PI, 0.1% Triton X-100, 1% FCS)에 1시간 동안 방치하였다. DNA의 형광분석은 FACS scan (Becton-Dickinson, Bedford, MA)을 이용하여 분석하였다. 자료수집은 Cell Fit software (Becton-Dickinson)를 이용하였고, 자료분석은 Phoenix Flow System Multicycle AV software를 이용하였다.

결과는 DNA 용량의 빈도분포로 나타내었다. 정상적인 DNA 막대그림의 특징은 최고점이 G0/G1 이배수(diploid)

세포의 핵산 용량과 일치한다는 것이었다. 이수배수체(aneuploidy)는 부가적 최고점이 있어, 일반적으로 G0/G1 이배체 최고점이 오른쪽으로 변위되어 존재한다는 점에서 구별되어졌다. 이수배수 세포의 백분율은 G0/G1 이배체 최고점내 세포에 대한 G0/G1 이수배수체 최고점내 세포의 백분율로 정의하였으며, 이배체 종양은 0%의 이수배수체 세포를 가진 것으로 간주하였다.

### 2) 면역조직화학분석

유세포분석에 쓰인 것과 동일한 조직을 이용하였고, p27Kip1의 발현은 쥐의 anti-p27Kip1 monoclonal antibody: G173-524 (1 : 450 dilution) for p27Kip1 protein (Pharmingen, San Diego, CA)을 이용하여 이미 본 연구자들이 기술했던 방법(9,10)과 동일하게 avidin-biotin-complex (ABC) immunoperoxidase 방법으로 검색하였다. ABC 염색 후 hematoxylin 대조염색을 마치고 두 명의 병리전문의가 환자에 대한 임상정보없이 판독하였다. 암조직이 포함된 연속적으로 채취된 세 개의 슬라이드를 염색하고 500개의 관찰된 암세포에서 염색된 세포를 계산하여 백분율로 기록하였다. 관찰된 영역에서 5% 이상 p27Kip1에 대해 균질하고 강한 핵 면역조직화학염색이 관찰되는 위암의 병리절편을 양성으로 하였다(Fig. 1). 결과가 다른 경우는 재검하였다.

면역조직화학염색 자료와 환자의 임상자료 및 조직학적 특징을 비교하였으며 통계적 분석은 Social Science program 8.0 version (SPSS Inc., Chicago, IL)의 Statistical Package를 이용하였다. 임상자료와 p27Kip1 단백질발현 사이의 관계는 Mantel-Haenszel two-tailed chi-square test로 평가하였다. 생존 분석은 log-rank test를 이용하였고, Cox proportional hazard model로 연구된 예후 변수의 다변량 분석을 하였다.

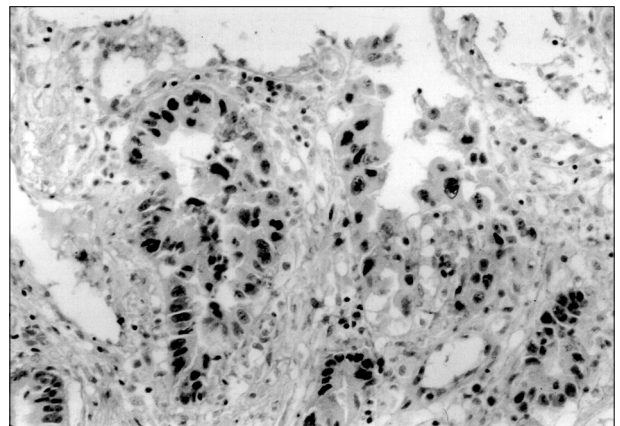


Fig. 1. Immunohistochemical staining of p27Kip1 protein. Nuclei of cancer cells are stained with p27Kip1 ( $\times 200$ ).

결 과

p27Kip1 단백질의 발현은 64예의 위암환자중 40예(62.5%)에서 현저하게 억제되었다. p27Kip1 발현과 환자의 임상 병리학적 지표사이의 연관성을 분석할 때, p27Kip1 발현은 질화의 병리학적 병기(P=0.945)나 종양 침윤의 깊이(P=0.600)와는 관련이 없었다. 그러나, p27Kip1 발현은 유의하게 핵 분화도가 나쁜 위암에서 감소(82.1%, 23/28; P=0.015)하였고, 또한 S기 분율이 높은(86.7%, 26/30) 종양에서 S기 분율이 낮은(41.2%, 14/34; P=0.0002) 경우보다 감소되었다. 이런 결과는 또 Lauren's classification에 따른

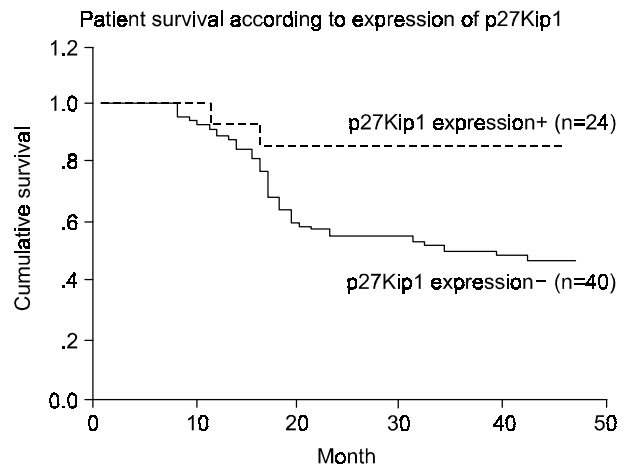
**Table 1.** Correlation between clinicopathological data of gastric cancer patients and expression of cyclin D1 and p27Kip1 protein

Variables	p27 expression (%)		P-value
	Low	High	
Depth of invasion			NS
T1	16/26 (61.5)	10/26 (38.5)	
T2	5/11 (45.5)	6/11 (54.5)	
T3	10/13 (76.9)	3/13 (23.1)	
T4	9/14 (64.3)	5/14 (35.7)	
L/N metastasis			NS
Negative	18/26 (69.2)	8/26 (30.8)	
Positive	22/38 (57.9)	16/38 (42.1)	
Stage			NS
I	16/26 (61.5)	10/26 (38.5)	
II	6/9 (66.7)	3/9 (33.3)	
III	10/16 (62.5)	6/16 (37.5)	
IV	8/13 (61.5)	5/13 (38.5)	
Lauren's classification			0.004
Intestinal	17/37 (45.9)	20/37 (54.1)	
Diffuse	23/27 (85.2)	4/27 (14.8)	
Differentiation			0.015
Well	1/4 (25.0)	3/4 (75.0)	
Moderate	10/24 (41.7)	14/24 (58.3)	
Poor	23/28 (82.1)	5/28 (17.9)	
Signet ring	6/8 (75.0)	2/8 (25.0)	
Ploidy			NS
Diploid	25/38 (65.8)	13/38 (34.2)	
Aneuploid	15/26 (57.7)	11/26 (42.3)	
S-phase			0.0002
<15%	14/34 (41.2)	20/34 (58.8)	
≥15%	26/30 (86.7)	4/30 (13.3)	

NS = statistically not significant.

p27Kip1의 발현을 분석할 때도 관찰되었다. Lauren's classification에 따른 경우, 37예(57.8%)는 장형 종양이었고, 27예(42.2%)는 미만형 종양이었다. p27Kip1의 발현은 유의하게 미만형 종양에서 감소되었다(P=0.004)(Table 1).

생존 분석에서 단일 변수 분석을 이용한 경우, 환자의 임상 결과와 p27Kip1 사이에 유의한 연관성이 있었다(Fig. 2). p27Kip1 발현은 재발한 26예 중 23예(88.5%)에서 감소되었다. 재발에 중 복막재발은 11예, 혈행성재발은 9예, 국소재발 5예, 원격림프절 재발은 1예였으며, 이중 p27-



**Fig. 2.** Cumulative survival of the patient according to the expression of p27Kip1 protein. Patients with tumors lack of p27Kip1 expression had poorer survival than other patients (P=0.0006 by log rank test).

**Table 2.** Survival analysis according to the prognostic variables of gastric cancer

Variables	Univariate analysis*	Multivariate analysis <sup>†</sup>	RR (CI) <sup>‡</sup>
Differentiation	0.108	0.053	0.6 (0.3~1.0)
Ploidy	0.598	0.561	1.2 (0.6~2.2)
S-phase	0.477	0.726	0.8 (0.4~1.6)
Depth of invasion	<0.001	0.008	2.0 (1.2~3.4)
Lymph node metastasis	0.019	0.535	1.2 (0.6~2.3)
Stage	<0.001	0.009	1.8 (1.1~2.9)
p27	<0.001	0.588	0.8 (0.4~1.5)

\* = Univariate analysis was conducted using log-rank test; results are shown as P-value; <sup>†</sup> = Multivariate analysis was conducted using Cox Regression Model; results are shown as P-value; <sup>‡</sup> = Relative risk determined by Cox Regression Model; 95% confidence intervals in parentheses. P-value less than 0.05 was considered as statistically significant.

Kip1 발현의 감소가 없었던 경우는 복막재발 2예와 혈행성재발 1예였다. 그러나, 다변량분석에서는 병리학적 병기(P=0.009)와 침윤의 깊이(P=0.008)가 37개월의 중앙추적기간(범위는 19~51개월)에 중요한 예후요소였다(Table 2).

## 고 찰

본 연구 결과, p27Kip1 발현은 S기 분율이 높을수록 유의하게 감소(P=0.002)하였다. 세포의 성장은 세포주기 중 G0/G1기에서 S기로 이행이 필수적인데 이 과정에는 myc에 의한 DNA 전사의 활성화와 여기서 발생한 성장신호에 대해 반응하는 cyclin dependent kinases (cdks)의 활성화에 의해 세포는 성장을 시작하게 된다.(13) 세포성장이 여러 cdk들에 의해 관장된다면 세포성장의 억제제는 cdk의 억제물질(cdk inhibitors; cdkI)에 의해 조절된다. cdkI는 크게 두 군으로 나누어지는데 cdk4에 대한 길항작용을 보이는 INK4군과 모든 cdk들에 길항 작용을 보이는 Kip(kinase inhibitor proteins)군으로 구성된다.(14) Kip군은 cdk-cyclin 복합체에 결합하여 작용을 나타내며 p21Cip1, p27Kip1, p57Kip2 등이 여기에 속하고 조절되는 cyclin들은 cyclin A, D, E 등이 있다.(15)

인체의 성장세포에서 cyclin D는 일차 cyclin으로 여겨지며, G1 cyclin이라 불린다.(16) 배양세포에서 D1 사이클린 과발현시 일어나는 것 중 가장 잘 알려진 것은 G1기가 짧아지고, 그 결과 좀 더 빨리 S기에 진입해 세포증식이 증가한다는 것이다.(17) 반대로, p27Kip1은 cdk억제자로 198개의 아미노산으로 구성된 단백질로 이의 과발현은 TGF- $\beta$ 에 의해 유발되고, cdk와 cyclin의 복합체에 부착되어 G1기에서 S기로의 이행을 차단하는 것으로, 그 결과 G1기 정체가 일어나는 것으로 알려져 있다.(18-21) p27Kip1 레벨은 정지된 상태의 세포에서 높으나 순환중인 세포에서는 풍부한 cyclin D와 cdk 복합체와 결합하기 때문에 감소한다. 따라서, p27Kip1은 위암의 성장에서 cyclin D1 발현을 하향조정함으로써 세포주기 조절인자로 작용하는 것으로 보인다.

구강암에서 보고된 연구에 의하면 이형성증(dysplasia)이 있는 구강상피세포에서 p27Kip1의 발현이 감소된 보고가 있다.(22) 또한, 배양세포시스템에서 p27Kip1의 이소성 발현에 의해서 세포의 분화가 유도된다는 실험 결과도 보고되고 있다.(23) 본 연구에서 p27Kip1과 암세포 분화 사이에 중요한 연관(P=0.015)이 있었고, 이는 다른 병소에서 시행된 연구의 결과와 유사한 것으로 판단된다.(2,22-25)

p27Kip1 발현의 감소는 고도 악성의 지표로 알려져 있고 다양한 암에서 환자의 낮은 생존과 관련된 것으로 알려져 있다.(2-6,26-28) 그러나, 본 연구에서는 p27Kip1 발현과 질환의 병기(P=0.945) 및 종양 침윤의 깊이(P=0.600) 사이에는 유의한 연관성이 없는 반면에 다른 연구에서는

p27Kip1 발현과 종양의 공격성 사이에 유의한 연관성이 있음을 보여 주었다.(2-6) 다변량 분석에서는 질환의 병기(P=0.009)와 침윤의 깊이(P=0.008)가 위암 환자의 결과를 예견하는 독립적인 예후 인자였다. 본 연구에서, stage IV group을 포함한 환자의 결과를 분석하였을 때, p27Kip1 발현의 감소(P=0.00006)가 중요한 예후 인자로 나타났다. 본 연구 결과는 p27Kip1 발현이 부족한 종양의 공격적인 생물학적 성질에 대한 간접적인 증거일 수 있다. 그러나, p27Kip1이 이런 점에서 중요한 예후인자라고 결정내릴 수는 없는데, 이는 본 연구가 소수의 환자를 대상으로 한 것이고 상대적으로 짧은 기간의 치료결과를 갖고 한 것이 때문이다. 더 많은 환자를 대상으로 한 부가적 연구가 위암에서 p27Kip1이 유용한 예후인자로 임상적 유용성이 있는지 밝히기 위해 필요한 것으로 보인다.

## 결 론

본 연구에서 이용한 위암조직에서 p27Kip1 발현은 62.5%에서 감소되어 있었고, p27Kip1과 암세포의 증식지표간에는 유의한 상관관계가 있었다. p27Kip1 발현은 미분화암 및 미만형 종양에서 유의하게 감소되어 있었고, p27Kip1 발현이 감소한 환자에서 높은 재발률과 사망률이 관찰되었다. 이상에서 p27Kip1은 위암의 악성도를 반영하는 종양표지자로 판단되나, 본 연구가 소수의 환자를 대상으로 한 점을 고려해야겠다.

## REFERENCES

- 1) Slingerland JM, Hengst L, Pan CH, Alexander D, Stampfer MR, Reed SI. A novel inhibitor of cyclin-Cdk activity detected in transforming growth factor  $\beta$  arrested epithelial cells. *Mol Cell Biol* 1994;14:3683-94.
- 2) Catzavelos GC, Bhattacharia N, Ung YC, Wilson JA, Roncari L, Sandhu C, et al. Decreased levels of the cell-cycle inhibitor p27Kip1 protein: prognostic implications in primary breast cancer. *Nature Med* 1997;3:227-30.
- 3) Lloyd RV, Jin L, Qian X, Kulig E. Aberrant p27Kip1 expression in endocrine and other tumors. *Am J Pathol* 1997; 150:401-7.
- 4) Loda M, Cukor B, Tam SW, Lavin P, Fiorentino M, Draetta GF, et al. Increased proteasome-dependent degradation of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 in aggressive colorectal carcinomas. *Nature Med* 1997;3:231-4.
- 5) Mori M, Mimori K, Shiraishi T, Tanaka S, Ueo H, Sugimachi K, et al. p27 expression and gastric carcinoma. *Nature Med* 1997;3:593.
- 6) Porter PL, Malone KE, Heagerty PJ, Alexander GM, Gatti LA, Firpo EJ, et al. Expression of cell-cycle regulators p27Kip1 and cyclin E, alone and in combination, correlate with survival

- in young breast cancer patients. *Nature Med* 1997;3:222-5.
- 7) Spirin KS, Simpson JF, Takeuchi S, Kawamata N, Miller CW, Koeffler HP. p27/Kip1 mutation found in breast cancer. *Cancer Res* 1996;56:2400-4.
  - 8) Ferrando AA, Balbin M, Pendas AM, Vizoso F, Velasco G, Lopez-Otin C. Mutational analysis of the human cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 in primary breast carcinomas. *Human Genetics* 1996;97:91-4.
  - 9) Kawamata N, Morosetti R, Miller CW, Park D, Spirin KS, Nakamaki T, et al. Molecular analysis of the cyclin-dependent kinase inhibitor gene p27/Kip1 in human malignancies. *Cancer Res* 1995;55:2266-9.
  - 10) Ponce-Castaneda MV, Lee MH, Latres E, Polyak K, Lacombe L, Montgomery K, et al. p27Kip1: chromosomal mapping to 12p12-12p12.1 and absence of mutations in human tumors. *Cancer Res* 1995;55:1211-4.
  - 11) Rasmussen UB, Wolf C, Mattei MG, Bellocq JP, Chambon P, Rio MC, et al. Identification of a new interferon-alpha-inducible gene (p27) on human chromosome 13q32 and its expression in breast carcinoma. *Cancer Res* 1993;53:4096-101.
  - 12) Yashui W, Kubo Y, Semba S, Yokozaki H, Tahara E. Reduced expression of cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 is associated with advanced stage and invasiveness of gastric carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1997;88:625-9.
  - 13) Tyson JJ. Modeling the cell division cycle: cdc2 and cyclin interactions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:7328-32.
  - 14) Sherr CJ. G1 phase progression: cycling on cue. *Cell* 1994; 79:551-5.
  - 15) Lee MH, Reynisdottir I, Massague J. Cloning of p57Kip2, a cyclin-dependent kinase inhibitor with unique domain structure and tissue distribution. *Genes Dev* 1995;9:639-49.
  - 16) Sherr CJ. Mammalian G1 cyclins. *Cell* 1993;73:1059-165.
  - 17) Mueller A, Odze R, Jenkins TD, Shahsestaei A, Nakagawa H, Inomoto T, et al. A transgenic mouse model with cyclin D1 overexpression results in cell cycle, epidermal growth factor receptor, and p53 abnormalities. *Cancer Res* 1997;57:5542-9.
  - 18) Polyak K, Lee MH, Erdjument-Bromage H, Koff A, Roberts JM, Tempst P, et al. Cloning of p27Kip1, a cyclin-dependent kinase inhibitors and a potential mediator of extracellular antimitogenic signals. *Cell* 1994;78:59-66.
  - 19) Fero ML, Rivkin M, Tasch M, Porter P, Carow CE, Firpo E, et al. A syndrome of multiorgan hyperplasia with features of gigantism, tumorigenesis, and female sterility in p27 (Kip1)-deficit mice. *Cell* 1996;85:733-44.
  - 20) Toyoshima H, Hunter P. p27, a novel inhibitor of G1 cyclin-Cdk protein kinase activity, is related to p21. *Cell* 1994; 78:67-74.
  - 21) Nourse J, Firpo E, Flanagan WM, Coats S, Polyak K, Lee MH, et al. Interleukin-2-mediated elimination of the p27Kip1 cyclin-dependent kinase inhibitor prevented by rapamycin. *Nature* 1994;372:570-3.
  - 22) Jordan RCK, Bradley G, Slingerland J. Reduced levels of the cell-cycle inhibitor p27Kip1 in epithelial dysplasia and carcinoma of the oral cavity. *Am J Pathol* 1998;152:585-90.
  - 23) Kranenburg O, Scharnhorst V, van de Eb A, Zanema A. Inhibition of cyclin-dependent kinase activity triggers neuronal differentiation of mouse neuroblastoma cells. *J Cell Biol* 1995; 131:227-34.
  - 24) Fredersdorf S, Burns J, Milne AM, Packham G, Fallis L, Gillett CE, et al. High level expression of p27 (kip1) and cyclin D1 in some human breast cancer cells: inverse correlation between the expression of p27 (kip1) and degree of malignancy in human breast and colorectal cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:6380-5.
  - 25) Esposito V, Baldi A, De Luca A, Gorger AM, Loda M, Giordano GG, et al. Prognostic role of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27 in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 1997;57:3381-5.
  - 26) Tsihlias J, Kapusta LR, DeBoer G, Morava-Protzner I, Zbieranowski I, Bhattacharya N, et al. Loss of cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 is a novel prognostic factor in localized human prostate adenocarcinoma. *Cancer Res* 1998; 58:542-8.
  - 27) Singh SP, Lipman J, Goldman H, Ellis FH, Aizenman L, Cangi G, et al. Loss or altered subcellular localization of p27 in Barretts associated adenocarcinoma. *Cancer Res* 1998;58: 1730-5.
  - 28) Yatabe Y, Masuda A, Koshikawa T, Nakamura S, Kuroishi T, Osada H, et al. p27Kip1 in human lung cancers: differential changes in small cell and non-small cell carcinomas. *Cancer Res* 1998;58:1042-7.